THE UNIVERSITY
OF ILLINOIS
LIBRARY

589.05
CE
~~Ges.22~~, v. 93

NATURAL
HISTORY
BIOLO

Return this book on or before the **Latest Date** stamped below. A charge is made on all overdue books.

University of Illinois Library

JUL 26 1947

MAY 12 1967

MAY 21 1967

M32

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat in Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat in Königsberg
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat in Breslau

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm, Geh. Reg.-Rat in Bamberg
Präsident Dr. A. Weber in Dresden
und
Prof. Dr. E. Gildemeister, Ober-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde-W.

Erste Abteilung. 93. Band

Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

Mit 38 Abbildungen im Text und 7 Tafeln

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1924

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 93. Beiheft.

Ausgegeben am 20. Oktober 1924.

589.05
CE
v.93

Nachdruck verboten.

Bericht über die 10. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie" vom 12. bis 14. Juni 1924 in Göttingen.

Zusammengestellt von dem Schriftführer **R. Otto** (Berlin).

1. Tag. 12. Juni 1924.

(Alle Sitzungen fanden im Hörsaal des Anatomischen Instituts statt.)

Geschäftlicher Teil.

Der Vorsitzende (Haendel-Dahlem) eröffnet die 10. Tagung mit einer Begrüßung der Mitglieder und Gäste der Vereinigung. Nach einem dem Gedächtnis der verstorbenen Mitglieder (Flügge-Berlin, Paltauf-Wien, Schattenfroh-Wien, Woithe-Dresden) gewidmeten Nachruf gibt er einen Ueberblick über die von der Vereinigung seit ihrem Bestehen geleistete wissenschaftliche Arbeit.

Reichenbach (Göttingen) begrüßt die Versammlung zugleich im Namen des Direktors des Anatomischen Instituts und der medizinischen Fakultät.

Der Vorsitzende dankt im Namen der Vereinigung insbesondere auch Herrn Reichenbach für seine Mühewaltung bei den Vorbereitungen für die Tagung und gibt weiter einen von dem Ausschuß vorgeschlagenen Zusatz zu § 2 der Statuten bekannt, der von der Versammlung genehmigt wird.

Für die satzungsgemäß aus dem Ausschuß ausscheidenden Mitglieder Kruse (Leipzig) und Doerr (Basel) werden auf Vorschlag des Ausschusses Kossel (Heidelberg) und Reichenbach (Göttingen) von der Versammlung in den Ausschuß gewählt.

Als Vorsitzenden hat der Ausschuß für die nächste Amtszeit Reichenbach gewählt.

Der Ausschuß besteht demnach aus:

Reichenbach (Göttingen), Vorsitzender,
Abel (Jena),
Uhlenhuth (Freiburg i. Br.),
Haendel (Berlin-Dahlem),
Mießner (Hannover),
Kossel (Heidelberg),
Otto (Berlin), Schriftführer.

Bezüglich der nächsten Tagung beschließt die Versammlung, daß sie Pfingsten 1925 in Frankfurt a. M. stattfinden soll.

580461

Wissenschaftlicher Teil.

Vorsitzender: Reiner Müller (Köln).

Referat I. E. Gotschlich (Gießen).

Die Variabilität der Mikroorganismen in allgemein-biologischer Hinsicht.

Wenn auf der diesjährigen Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie das Thema der Variabilität der Mikroorganismen im Mittelpunkt unserer Verhandlungen steht, so soll damit zweierlei zum Ausdruck gebracht werden: erstens die überragende Bedeutung, welche die Variabilität der Mikroorganismen heute für die allgemeine Biologie und insbesondere für die Medizin und Hygiene gewonnen hat; zweitens die Frage nach der Möglichkeit eines abschließenden oder doch zusammenfassenden Urteils über das Problem der Variabilität selbst, dessen Literatur seit der Jahrhundertwende zu einer wahren Hochflut angewachsen ist. Der erste Punkt dürfte kaum bestritten werden; wie auf so manchen anderen Gebieten, so hat auch hier das Studium der niedersten einzelligen Lebewesen in ungeahnter Weise befruchtend auf die allgemeinen biologischen Wissenschaften eingewirkt, ja, die Mikroorganismen, und in erster Linie die unter künstlichen Bedingungen leicht in Reinkultur züchtbaren Bakterien, sind sogar ein besonders dankbarer Gegenstand für Variabilitätsstudien. Ihr einfacher Bau und ihre geringe Differenziertheit lassen die Bahn frei für Entwicklungsmöglichkeiten nach so verschiedenen Richtungen und in einem solchen Ausmaße, wie das bei den höheren Lebewesen infolge ihrer in einem bestimmten Sinne festgelegten Struktur nicht mehr möglich ist; denken wir nur an die noch später zu besprechenden außerordentlichen Verschiedenheiten der Ernährung und der chemischen Leistungen, die bei einem und demselben Mikroben auftreten können! Dazu kommt, daß die Einflüsse der Umwelt den Mikroben in ungleich wirksamerer Weise treffen, als die Zellen der höheren Lebewesen; abgesehen davon, daß die letzteren im Innern des Organismus geschützt liegen und von den Einwirkungen der Außenwelt nicht so leicht und unmittelbar erreicht werden, ist auch der Effekt der äußeren Einflüsse auf die Mikroorganismen außerordentlich gesteigert: in räumlicher Hinsicht durch die im Verhältnis zur Teilchengröße sehr vergrößerte Oberfläche, in zeitlicher Beziehung durch die rasche Generationsfolge und die damit zusammenhängende Häufung der äußeren Eindrücke, deren jeder einzelne unmeßbar klein sein mag, die aber durch stete Wiederholung schon in kurzer Zeit zu einem ansehnlichen Betrage anwachsen. Wenn ein Bakterium unter günstigen Bedingungen schon innerhalb einer halben Stunde (manchmal auch rascher) sich teilt, so ergibt dies binnen 24 Std. 48 Generationen; d. h. in einer 24stündigen Kultur dieses Bakteriums können sich Vorgänge abspielen, wie sie beim Menschen mit seiner durchschnittlichen Lebensdauer von 30 Jahren erst binnen $1^1/_2$ Jahrtausenden in Wirksamkeit treten könnten. Freilich hat Eisenberg gegen diese Berechnung den Einwand erhoben, daß man, um eine vergleichbare Grundlage mit höheren Lebewesen zu haben, die Vermehrung eines Mikroben nicht mit der bei den höheren Lebewesen zur Erzeugung der nächsten Generation erforderlichen langen Zeitspanne

in Parallele setzen darf, sondern daß mit Rücksicht auf die Leistung der Assimilation die einzelne Zellteilung des Mikroben und des vielzelligen Organismus verglichen werden müssen; aber auch dann bleibt noch ein außerordentlicher Unterschied zugunsten der Mikroben bestehen und ist dann etwa eine 12stünd. Bakterienkultur mit einem Menschenleben von 30 Jahren zu vergleichen, d. h. im gleichen Zeitraum spielte sich beim Mikroben etwa 22000mal derselbe Vorgang der Assimilation, des Aufbaues und der Vererbung ab als beim Menschen. Wir kennen die meisten Mikroben jetzt seit etwa 40 Jahren; in dieser Zeit können an ihnen biologische Veränderungen erfolgt sein, wie sie bei höheren Lebewesen erst binnen geologischer Epochen zu erwarten sind. Und in der Tat, Kruse, dem wir die erste kritische zusammenfassende Studie von allgemein-biologischen Gesichtspunkten aus über die Variabilität der Mikroorganismen verdanken, konnte schon damals, i. J. 1896, den Satz aussprechen, daß kein einziger Charakter als absolut konstant zu bezeichnen sei und daß die in späteren Zeiten zu erwartenden Ergebnisse noch gar nicht abzusehen seien. Dazu kommt, daß die einmal erworbenen Variationen bei den Mikroorganismen auch ungleich leichter auf die folgenden Generationen übertragen werden, als bei den höheren Lebewesen, schon deshalb, weil die Mikroben keinen Unterschied zwischen Körper- und Keimzellen zeigen, sondern jede einzelne Zelle sowohl vegetatives Zytoplasma (Soma), wie das die Erbmasse tragende Keim- oder Idioplasma aufweist und weil das Keimplasma der einzelnen Zelle des Mikroben von äußeren Einwirkungen leichter erreicht wird als die tief im Innern der vielzelligen Organismen wohlgeschützt liegenden Keimzellen. So dürfen wir auch vom Standpunkt der Erblichkeit aus an den Mikroben weitergehende und dauerhaftere Veränderungen erwarten als bei den höheren Lebewesen; doch ich will dem Referat von Herrn Kollegen Jollos nicht vorgreifen und werde daher in meinen Darlegungen Vererbungsfragen nur insoweit kurz berücksichtigen, als sie für das grundsätzliche Verständnis der Variabilität nicht umgangen werden können. In diesem Zusammenhange ist auch der Rolle der geschlechtlichen Vermehrung zu gedenken, die bei Protozoen und einigen Schimmelpilzen unbestritten ist, während für die Bakterien ihr Nachweis fehlt und die meisten Forscher bei diesen niedersten Lebewesen nur vegetative Vermehrung annehmen und demgemäß der Einfluß, den die Amphimixis gerade auch für bestimmte Ausbildung von Varianten durch Kombination (Bastardierung) hat, hier in Wegfall käme. Ob freilich geschlechtliche Vorgänge bei Bakterien gänzlich auszuschalten seien, das läßt sich heute mit Bestimmtheit noch nicht sagen. In neuerer Zeit mehren sich die Stimmen, die auch den Bakterien einen weit komplizierteren Entwicklungskreis zuweisen möchten; ich erinnere an die von Almquist, Ph. Kuhn u. a. bei Bakterien, von Meirowsky bei Syphilisspirochäten nachgewiesenen besonderen Wuchsformen, an die von Almquist sowie von Friedberger u. Meißner beschriebenen submikroskopischen Stadien im Entwicklungsgange von Bakterien; ja Prell und Schmitz sprechen sogar von einem Generationswechsel. Besonders bei der Sporenbildung der Bakterien ist die Möglichkeit einer Beteiligung geschlechtlicher Vorgänge nicht von der Hand zu weisen; ich erinnere an die Beobachtung von Schaudinn, daß der Sporulation unmittelbar eine unvollständige Zellteilung vorausgeht, und Dobell

und Ruzicka sehen diesen Prozeß, von ihnen als Autogamie bezeichnet, direkt als Aequivalent einer Kopulation an. Doch wissen wir darüber nichts Sicheres; kämen wirklich sexuelle Vorgänge auch bei Bakterien in Betracht, so würde sich der Kreis der Bedingungen für die Variabilität noch erheblich erweitern. Ich werde im Verlauf meines Referats immer wieder auf die Beziehungen zwischen der Variabilität der Mikroorganismen und allgemein-biologischen Fragen einzugehen haben; hier sei noch kurz die Bedeutung unseres Themas für die Medizin und Hygiene erwähnt. Die allgemeine Pathologie ist berufen, aus den Ergebnissen der Variabilitätsforschung Nutzen zu ziehen; der zyklische Ablauf mancher Infektionskrankheiten, z. B. des Rückfallfiebers, kann dadurch zustande kommen, daß unter der Gegenwirkung der Abwehrstoffe des Organismus die Krankheitserreger zurückgedrängt werden und nach dem so entstandenen freien Intervall ein neuer Anfall erst dann zustande kommt, nachdem eine Minderheit der überlebend gebliebenen aber nunmehr modifizierten Erreger Zeit zur Vermehrung gefunden hat. Auch die wechselnde Lokalisation einer und derselben Infektion, z. B. der Syphilis, bald auf Haut und Schleimhäuten bald im Zentralnervensystem, kann durch Ausbildung bestimmter, an diese Gewebe besonders angepaßter Modifikationen desselben Virus, hier in einer dermotropen und einer neurotropen Modifikation erklärt werden. Endlich kann das Verhalten der Variabilität der Mikroorganismen auch durch Analogieschlüsse eine Möglichkeit des Verständnisses für solche Krankheiten geben, bei denen unseres Wissens pathogene Kleinwesen ätiologisch überhaupt nicht in Betracht kommen, sondern die Ursache des Krankheitsprozesses in einer Umstimmung der Körperzellen gelegen ist, wie bei den malignen Tumoren; Preisz hat direkt auf die Aehnlichkeit im Wachstum zwischen den (später noch zu besprechenden) knopfbildenden Kolonien von Bakterien auf der Kulturplatte und den malignen Tumoren hingewiesen. Im Anschluß an die allgemeine Pathologie kann auch die Klinik die Tatsachen der Variabilität zur Erklärung auffallender abweichender Krankheitsbilder, besonders gruppenweise auftretender, heranziehen. Vor allem aber ist es die Epidemiologie, der die Variabilität der Mikroorganismen den Schlüssel bietet für so manche rätselhafte Befunde und scheinbare Widersprüche zwischen epidemiologisch-statistischer und ätiologischer Forschung; die Veränderungen des Charakters der Epidemien im Laufe der Zeiten, ja schließlich das Kommen und Gehen, und selbst die erstmalige Entstehung von Seuchen finden hier ihre Deutung. Ich verweise betr. aller Einzelheiten dieserhalb auf das morgige Referat des Herrn Kollegen Neufeld. Ferner wird auch unser therapeutisches Handeln, sei es in Gestalt der Sero- oder Vakzinetherapie, vor allem aber auf chemotherapeutischem Gebiet durch die Tatsachen des Variierens der Krankheitserreger, infolge sero- und giftfester Stämme weitgehend beeinflußt, worüber wir das Referat von Herrn Kollegen Morgenroth hören werden. Endlich hat die Kenntnis der Variabilität der Krankheitserreger eine außerordentliche Bedeutung für die bakteriologische Diagnostik; durch längeren Aufenthalt im infizierten Organismus können die Mikroben solche Aenderungen erleiden, daß sie vom Normaltyphus abweichende Formen aufweisen, z. B. in der Koloniebildung, worauf insbesondere Baerthlein und Gildemeister hingewiesen haben, und die Möglichkeit vorliegt, daß — bei mangeln-

der Kenntnis dieser Varianten — ihr Vorhandensein ganz übersehen wird; ja schließlich können die Keime aller ihrer charakteristischen Merkmale beraubt werden, wie das z. B. für Diphtheriebazillen zuerst von Bernhardt und Paneth, später von Schmitz nachgewiesen wurde; hier ist heute tatsächlich schon der Punkt erreicht, wo ohne Kenntnis der Vorgeschichte des Falles die Artbestimmung der gefundenen Mikroben und damit zugleich die bakteriologische Diagnostik überhaupt in solchen Fällen in Frage gestellt oder ganz unmöglich wird. Dazu muß man sich vor dem naheliegenden Trugschluß hüten, ohne weiteres alle solche Befunde — z. B. gerade hier in der bakteriologischen Diphtheriediagnose die sog. Pseudodiphtheriebazillen — im Sinne einer Umwandlung aus den spezifischen Krankheitserregern deuten zu wollen; wir dürfen nicht vergessen, daß schon epidemiologische Gründe durchaus gegen eine solche Deutung sprechen; wenn z. B. Pseudodiphtheriebazillen nach den Feststellungen v. Riemsdijks u. a. promiscue in annähernd demselben Prozentsatz bei der Umgebung Diphteriekranker und bei Gesunden ohne irgendwelche Beziehungen zum Kranken sich finden, so liegt hierin allein schon der Beweis, daß die Pseudodiphtheriebazillen — unbeschadet ihrer phylogenetischen Verwandtschaft mit dem Diphtherieerreger — eben doch eine von letzterem getrennte Art darstellen. Im Einzelfall kann es freilich schwierig oder unmöglich sein, die Entscheidung zu treffen, ob ein Pseudodiphtheriebazillus oder ein aller seiner typischen Merkmale beraubter Diphtheriebazillus vorliegt; die letztere Alternative wird allerdings immer die viel seltenere sein, und für die Praxis ist beides nahezu gleichbedeutend, da mit den übrigen Merkmalen auch die Virulenz für den Menschen verloren geht und hier tatsächlich der Parasit wieder zum harmlosen Epiphyten oder Saprophyten geworden ist. Auch kommt eine Rückverwandlung in den typischen virulenten Erreger praktisch kaum in Betracht; aus der Literatur sind mir nur zwei Fälle bekannt, die in diesem Sinne herangezogen werden konnten; in dem einen von Trautmann u. Gaehtgens waren nacheinander aus dem Kranken zuerst mehrfach Pseudodiphtheriebazillen und später echte Diphtheriebazillen gezüchtet worden; strenger beweisend ist die völlig einzeln stehende Beobachtung von Baerthlein, dem es gelang, aus einem avirulenten atypischen Stamm eine allerdings schwach virulente Variante abzuspalten.

Ueber die große theoretische und praktische Bedeutung der Variabilität für Biologie und Medizin wird also wohl Einigkeit herrschen. Dagegen mag mein eingangs geäußerter Satz, daß wir jetzt schon in der Lage seien, ein in gewissem Sinne abschließendes Urteil über die Bedingungen und das Wesen des Variierens abzugeben, von mancher Seite starkem Zweifel begegnen. Dies scheint sich schon in der durchaus schwankenden und vieldeutigen Namengebung widerzuspiegeln, wenn z. B. nach E. Lehmann mit dem Wort „Mutation" von verschiedenen Autoren nicht weniger als 6 verschiedene Begriffe bezeichnet werden, wenn bei einem und demselben Forscher im Laufe der Entwicklung seiner Arbeiten dieselbe Variante mit ganz verschiedenen Namen belegt wird und wenn seitens namhafter Kenner überhaupt die Berechtigung bestritten wird, das Wort „Mutation" nicht etwa nur in der Mikrobiologie, sondern auch in anderen biologischen Wissenschaften zu gebrauchen. Wir werden auf die Frage der Nomenklatur später, nach Kenntnisnahme der wichtigsten Erscheinungen der

Variabilität, noch einzugehen haben. Trotz dieses scheinbar unheilbaren Wirrwarrs hoffe ich aber doch, meine Herren, Ihnen ein widerspruchsloses, abschließendes Urteil über das gesamte Gebiet, ja schließlich sogar eine befriedigende ursächliche Erklärung der Tatsachen der Variabilität geben zu können. Als Leitmotiv soll uns dabei ein Vergleich mit der modernen Entwicklung der allgemeinen Chemie begleiten und schließlich zu einer strukturchemischen Theorie der Variabilität führen. Es ist selbstverständlich nicht möglich, im Rahmen dieses Referats eine erschöpfende Darstellung aller Einzelheiten zu geben; in dieser Beziehung muß ich auf die zusammenfassenden Uebersichten verweisen, wie sie zuerst von Kruse (1896), später von mir selbst (1902 u. 1913), sowie von Pringsheim (1910) und zum letzten Male in der gedankenreichen Studie von Eisenberg (1915) gegeben worden sind. Hier können nur die wichtigsten Etappen der Variabilitätsforschung, soweit sie von allgemeiner Bedeutung sind, berücksichtigt werden, und da werden wir uns am besten an die geschichtliche Entwicklung halten. Zuverlässige Arbeiten und Schlußfolgerungen über Variabilität der Mikroorganismen waren überhaupt erst möglich, seitdem durch die von R. Koch geschaffene Methodik sichere Reinkulturen gewonnen und beliebig lange Zeit unter verschiedenen Bedingungen beobachtet werden konnten. Die Ansichten über einen schrankenlosen Pleomorphismus der Mikroorganismen, wie sie noch in den 60er und 70er Jahren des vorigen Jahrhunderts durch v. Nägeli, Zopf, Billroth u. a. vertreten wurden, waren rein spekulativer Natur und mußten der strengen experimentellen Kontrolle — eben mangels der gesicherten Reinkultur — entbehren; sie verhalten sich zu unserer heutigen wohlbegründeten Erkenntnis der Variabilität wie das Suchen der Alchymie nach dem Stein der Weisen zur heutigen Kenntnis der radioaktiven Umwandlungsfähigkeit der chemischen Elemente. Da war es denn eine wahre Großtat, daß R. Koch — auf der Grundlage des bereits von F. Cohn festgelegten Gesetzes der Konstanz der Formen — die Theorie der Spezifität schuf; ein ungeheurer Fortschritt für Praxis und Theorie, der erst eine gesicherte bakteriologische Diagnose ermöglichte und zu diesem Zwecke eine immer mehr verfeinerte Methodik schuf — ich nenne hier nur die R. Pfeiffersche Reaktion und die zuerst durch v. Gruber beschriebene spezifische Agglutination. Für eine Infektionskrankheit nach der andern wurden wohlcharakterisierte, streng spezifische Erreger gefunden und dem Gesetz der Spezifität der Infektion das ebenbürtige Gesetz der Spezifität der Immunität an die Seite gestellt, zwei gesicherte Stützen, auf denen auch heute noch der ganze stolze Bau unserer Wissenschaft fest gegründet ist. Sehr bald wurden freilich auch Erscheinungen der Variabilität mit den gesicherten Methoden der Reinkultur festgestellt; aber diese Tatsachen, zusammenhanglos dastehend und vorläufig ohne praktische Bedeutung, hatten mehr ein Interesse als Kuriositäten, wie schon der von Ch. Darwin ihnen beigelegte Name „sports“ besagt. Nur auf dem Gebiete der absichtlichen künstlichen Abschwächung der Infektionserreger durch vorsichtige Anwendung von Hitze, Desinfektionsmitteln oder Tierpassagen, wie sie von Pasteur und seiner Schule anfangs der 80er Jahre zum Zwecke der Gewinnung von Schutzimpfstoffen betrieben wurde, lagen zusammenhängende Erfahrungen von theoretischer und praktischer Bedeutung vor; hierher ge-

hört vor allem auch der zu derselben Zeit durch Fischer u. a. geführte Nachweis, daß das Kuhpockenvirus durch Verimpfung von echtem menschlichen Pockenmaterial auf das Kalb erzeugt werden kann, also nichts anderes als eine durch Tierpassage dauernd abgeschwächte irreversible Abart des Variolavirus darstellt. Die Erfahrungen über spontanes Variieren der Mikroorganismen waren aber damals noch recht spärlich. Als erster hat solche wohl Hauser i. J. 1885 am Bac. proteus festgestellt, und ganz besondere Bedeutung beansprucht heute noch die etwa aus derselben Zeit stammende Studie von v. Gruber und Firtsch über den Vibrio Finkler-Prior, indem hier zum ersten Male das sprunghafte Auftreten von Varianten beobachtet worden war, und zwar mit einer durchaus einwandfreien Methodik, ausgehend von Einzelkolonien. Aus jener Zeit sind sonst noch besonders zu erwähnen die Arbeiten von K. B. Lehmann über asporogene Milzbrandbazillen, von E. Chr. Hansen über asporogene Hefen, von Dieudonné, Schottelius und Wasserzug über farbstoffbildende Bakterien, Kruse und Pansini über Strepto- und Pneumokokken, Kruse und Wilde über Kapselbazillen. Auch war die Erkenntnis der verwandtschaftlichen Beziehungen der verschiedenen Bakterienarten schon so weit fortgeschritten, daß von mehreren Seiten, insbesondere von Kruse sowie Lehmann und Neumann, Versuche zur Aufstellung eines natürlichen Systems unternommen werden konnten. Einen vollständigen Umschwung brachte dann die Jahrhundertwende, in erster Linie infolge der Wiederentdeckung der seit Jahrzehnten in Vergessenheit geratenen Mendelschen Gesetze, und durch das monumentale Werk von H. de Vries „Die Mutationslehre" v. J. 1902. Nunmehr war erst die Variabilität in ihrer ganzen theoretischen Bedeutung erkannt, indem hier zum ersten Male bewußt die tatsächliche Existenz und Wichtigkeit sprunghafter Varianten erkannt war, während man früher immer nur mit ganz allmählichen Veränderungen gerechnet hatte. Mag auch seitdem der Begriff der Mutation selbst gegenüber seiner ursprünglichen Fassung von de Vries sich gewandelt haben, mag auch gerade von seinem klassischen Objekt der Oenothera unterdessen sich herausgestellt haben, daß hier wahrscheinlich gar kein reiner Fall von Mutation vorliegt, sondern eine komplizierte Bastardierung, so bedeutet doch das Werk von de Vries geradezu eine neue Epoche in den biologischen Wissenschaften, so daß schon aus diesem Grunde die Bezeichnung „Mutation" erhalten bleiben muß. Die Anwendung dieses neuen Begriffs auf die Mikrobiologie ließ nicht lange auf sich warten und erwies sich als überaus fruchtbar. Als erster hat R. Koch selbst, der Vater der Spezifitätslehre, die hohe Bedeutung dieser neuen Forschungen für die Lehre von den Krankheitserregern anerkannt, als er kurz darauf mit einer Gruppe von Mikroorganismen zu tun hatte, den Trypanosomen, bei denen die Spezifität nicht streng ausgebildet war und fließende Uebergänge vorkamen; R. Koch selbst deutete dies durch die Annahme, daß diese Erreger noch nicht lange genug ihrem Wirtsorganismus angepaßt seien und daher bei ihnen die Spezifität noch nicht genügend fest ausgebildet sei. Man hat manchmal R. Koch den Vorwurf gemacht, er habe den Begriff der Spezifität in zu starrer Weise erfaßt und festgehalten und von Variabilität nichts wissen wollen. Schon die Stellungnahme R. Kochs zu der de Vriesschen Theorie mit Bezug auf die Trypanosomen lehrt, wie sehr zu Unrecht man unserem

Altmeister eine solche einseitige Auffassung unterlegt hat. Zwei andere Aussprüche von R. Koch in demselben weitblickenden Sinne will ich hier noch anführen:

Anläßlich der erfolgreichen Nachprüfung der Abschwächung des Milzbrandbazillus schreibt R. Koch wörtlich:. „Ich möchte erklären, daß ich nicht etwa ein prinzipieller Gegner der Lehre der Umzüchtung einer Art in eine andere nahe verwandte bin und demgemäß auch die Abänderung pathogener Organismen in unschädliche und umgekehrt für nicht außer dem Bereich der Möglichkeit liegend halte .... Nachdem der Beweis für die Umzüchtung von Milzbrandbazillen in exakter Weise erbracht ist, halte ich dieselbe nunmehr für eine feststehende Tatsache, verlange aber für weitere Umzüchtungsversuche ebenso unwiderlegliche Beweise." Und in seinem ersten Bericht von der Cholera-Expedition schreibt er aus Aegypten: „Die Epidemie erlischt mitten unter vielen für die Ansteckung empfindlichen Individuen. Diese Erfahrung ist nur durch die Annahme erklärbar, daß gegen Ende der Epidemie der Infektionsstoff an Wirksamkeit einbüßt oder wenigstens unsicher in seiner Wirkung wird." R. Koch hatte wohl recht mit seiner vorsichtigen und skeptischen Haltung, nachdem so manche sog. Umzüchtungsversuche aus älterer und neuerer Zeit, auf die ich im einzelnen nicht näher eingehen will, als irrtümlich, in erster Linie durch Mängel in der Reinzüchtung sich herausgestellt hatten. Genug, es besteht kein Widerspruch zwischen der Lehre von der Spezifität und den Tatsachen der Variabilität, wenn man nur die Spezifität nicht als etwas unabänderlich Starres, ein für allemal Gegebenes, sondern als etwas phylogenetisch Gewordenes, und deshalb in verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen in ungleich hohem Grade ausgeprägtes Produkt der Entwicklung betrachtet. Zu dem gleichen Punkt hat M. Neißer in seiner Frankfurter Rektoratsrede v. J. 1921 beachtenswerte erkenntnistheorethische Ausführungen gebracht, die gleichfalls in dem Satze gipfeln, daß kein Widerspruch zwischen Spezifität und Variabilität besteht und daß die Wahrscheinlichkeit eines Postulates wie die Umzüchtung einer Art in die andere im Laufe der Zeiten, an Hand des inzwischen gesammelten Tatsachenmaterials, jetzt als größer zu bewerten ist, als früher zu einer Zeit, da diese Tatsachen noch nicht vorlagen. M. Neißer selbst und sein Mitarbeiter Massini waren es auch, die i. J. 1906 zum ersten Male den Begriff der Mutation auf speziell bakteriologischem Gebiet anwendeten; bei ihrem Bact. coli mutabile konnten sie zum erstenmal, mit absolut einwandfreier Versuchstechnik, in wochenlangen Versuchsreihen, bei denen tagtäglich von isolierten Kolonien ausgegangen wurde, nachweisen, daß aus der anfangs scheinbar völlig einheitlichen Kolonie dauernd Abspaltung eines anderen Typus erfolgt, der sich dann seinerseits als durchaus stabil erwies. Die nächsten wichtigen Etappen der Variabilitätsforschung bis zur Gegenwart lassen sich dann durch folgende Namen und Daten kurz charakterisieren: Als auslösende Momente für das Variieren in der künstlichen Kultur erkennen Baerthlein und Gildemeister die Anhäufung der eigenen Stoffwechselprodukte in alten flüssigen Kulturen, R. Müller die Einwirkung fremder ungewohnter Zuckerarten im Nährboden, P. Ehrlich und neuerdings

Schnabel die Einwirkung von Giften, teils im Sinne der Giftfestigung, teils im Sinne einer zustande kommenden Ueberempfindlichkeit, wobei diese beiden scheinbar gegensätzlichen Effekte doch in funktioneller Wechselwirkung stehen; endlich gehören hierher die neuesten Forschungen von Doerr, Otto u. Munter, Seiffert, Bail über die Beziehungen zwischen Variabilität und Bakteriophagenwirkung. Andererseits erweist sich die Existenz der Mikroben im tierischen Organismus als einer der wichtigsten Faktoren für das Zustandekommen von Varianten; nicht nur der tierische oder menschliche Organismus wird durch die Einwirkung der in ihm lebenden Krankheitserreger umgestimmt und zur Bildung von Abwehrstoffen angeregt, sondern umgekehrt auch der Mikrob erleidet durch diese Gegenwirkung des Organismus eine Umstimmung, die von Bail sehr treffend als „tierischer Zustand", von Sauerbeck als „strukturelle Anpassung" des Mikroben bezeichnet wird; insbesondere erweist sich dabei die Kapselbildung, nach den Forschungen v. Grubers und seiner Schule, sowie von Toenniessen, als funktionell eng verknüpft mit der Virulenz. Die Umstimmung des Zelleibs des Mikroben kann soweit gehen, daß sogar seine serologischen Reaktionen verändert werden, sei es in Gestalt „serumfester" inagglutinabler Kulturen, sei es durch Annahme einer fremden Agglutinabilität im Sinne von Ph. Kuhns Paragglutination. Vor allem aber sind schon hier einige Tatsachen prinzipieller Bedeutung für die Erzeugung dauerhafter vererblicher Varianten, ja für die Ueberschreitung des Artbegriffes zu nennen: Toenniessen gelingt es, durch systematische Abstufung der Variationsreize (Stoffwechselprodukte der Kultur) ein und dasselbe Merkmal, nämlich die Kapselbildung in Verbindung mit der Virulenz, in ganz verschiedener Weise zu beinflussen, angefangen von ganz vorübergehenden Modifikationen bis zu sprunghaften starken, bereits fester haftenden Abänderungen und schließlich zu endgültiger, dauerhafter Mutation. Jollos endlich vermag bei Paramäcien sogar eine Mutation zu erzielen, die selbst die Kopulation überdauert und auch durch die geschlechtliche Fortpflanzung nicht mehr auf den normalen Ausgangstypus zurückzuführen ist. R. Müller, Sobernheim und Seligmann und Schmitz, sowie Schnitzer und Munter und Kuczynski und Wolff beobachten eine direkte Umzüchtung einer Art in eine andere nahestehende (z. B. von Typhus- in Paratyphusbazillen, von hämolytischen in grünwachsende Streptokokken); Bernhardt und Paneth sowie Schmitz vermögen durch Tierpassage Diphtheriebazillen dauernd ihrer sämtlichen charakteristischen Merkmale zu entkleiden, und umgekehrt Uhlenhuth und Zuelzer gelingt es, harmlose Wasserspirochäten durch Tierpassage zu einem Krankheitserreger vom Typ der Sp. icterogenes zu machen und so zum ersten Male den Uebergang eines Saprophyten in einen Krankheitserreger unter unseren Augen experimentell zu erzeugen.

Mit diesen ungeahnten Erfolgen der experimentellen Variabilitätsforschung geht andererseits die grundsätzliche Umwandlung des Bildes einher, das das Produkt von Variabilität und Phylogenese heute in dem natürlichen System der pathogenen Mikroorganismen erkennen läßt und das außerhalb dieses Gedankenganges überhaupt nicht mehr zu verstehen wäre. Während wir im Beginn der bakteriologischen Aera und etwa noch bis zur Jahrhundertwende die Krankheitserreger fast überall als einzelne scharf umrissene Arten kannten,

zwischen denen es keine Mittelglieder gab (wie z. B. Milzbrand-, Typhus-, Diphtherie-, Rotz-, Tuberkelbazillen, Choleravibrionen, Recurrensspirochäten), sind jetzt einzelstehende Arten geradezu zu den Ausnahmen geworden (etwa noch Milzbrand, Tetanus und Cholera) und sehen wir sonst überall eine Gliederung nach natürlichen Gruppen, wobei wieder mehrere Möglichkeiten solcher natürlichen Gruppierung zu unterscheiden sind.

Entweder handelt es sich in jeder Gruppe um mehrere nahe verwandte Erreger, die entsprechend ähnliche menschliche oder tierische Infektionskrankheiten erzeugen, z. B. 3 Arten von Malaria (tertiana, quartana, tropica), — 2 Arten von afrikan. Schlafkrankheit, verursacht durch Trypanosoma gambiense und rhodesiense, — 2 scharf getrennte Arten von Recurrens (russische und zentralafrikanische) neben anderen weniger scharf abgegrenzten Arten (amerikan. und indische Recurrens), — Syphilis, Frambösie, Kaninchenspirochätose — Trachom und Einschlußblennorhoe (B. Heymann) — Encephalitis lethargica und Herpes (Doerr und Schnabel), — Fleckfieber und Brillsche Krankheit — Spotted fever in verschiedenen Abarten —, Pocken, Vakzine, Sanaga-Pocken, Alastrim —, Tuberkelbazillen vom Typ. humanus und Typ. bovinus u. a. — Gasbrand, Malignes Oedem und Rauschbrand mit ihren Unterarten — Typhusbazillus, Paraty. A, Gruppe des Paraty. B, Gruppe des Bac. enteritidis Gärtner und Tierseuchenerreger — Kruse-Shigas echter Ruhrbazillus, Gruppe der Pseudodysenterie — Bac. melitensis, Bac. abortus Bang.

Bisweilen zeigt ein Glied der natürlichen Gruppe eine Sonderstellung in größerem Abstand von den anderen, während die übrigen enger zusammengehören, so der Typhusbazillus gegenüber den Paratyphusbazillen und Fleischvergiftern, der Kruse-Shigasche Ruhrbazillus gegenüber der Pseudodysenteriegruppe.

Eine zweite und dritte Möglichkeit ist die, daß nicht artverschiedene, sondern ein und derselbe Erreger, der eine wohlcharakterisierte Infektion verursacht, in mehreren relativ konstanten Typen existiert, die wiederum entweder nur kulturelle Abweichungen, aber einheitliches pathogenes Verhalten zeigen oder bei denen auch die krankheitserregende Funktion entsprechend differenziert ist. Bezüglich kultureller Abweichungen vom Normaltyp haben insbesondere die überaus exakten Untersuchungen von Braun und seinen Mitarbeitern über den Verwendungsstoffwechsel verschiedener pathogener Bakterien auf Nährböden einfachster, genau definierter chemischer Zusammensetzung überraschende Ergebnisse zu Tage gefördert. So gibt es Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbazillen, die im Gegensatz zu normalen Kulturen NH_3 zu assimilieren vermögen (wie schon früher durch v. Loghem beobachtet); ja innerhalb einer und derselben Kultur können beide Typen vorhanden sein und lassen sich in beide Richtungen ineinander überführen, während bei demselben Patienten immer nur entweder der eine oder andere Typ vorkommt; und die NH_3-assimilierende Variante ist wiederum in sich nicht einheitlich, da einige Individuen Zitronensäure zu verwenden vermögen, andere aber nicht. Eine andere kulturelle Variante ist der von Mandelbaum beschriebene Metatyphusbazillus, ausgezeichnet durch sein konstantes und dauerhaftes Unvermögen der Glyzerinspaltung, der als Erreger einer Milchepidemie in München

ganz regelmäßig und ausschließlich bei allen Kranken (übrigens nach Russovici auch anderwärts) gefunden wurde, während er sich bei der Bazillenträgerin, die nachweislich diese Milchinfektion verursacht hatte, neben typischen Typhusbazillen fand. Ferner zeigen Typhusbazillen serologische Varianten, und zwar in mehrfacher Hinsicht, je nach ihrer Mitagglutination mit Gärtner-Bazillen oder je nach der Form der Ausflockung in großen oder feinen Flocken (nach Weil und Felix). Hierher gehören ferner die hämolysierenden Varianten des Choleravibrios, die verschiedenen serologischen Typen des Diphtheriebazillus (Bell), des Influenzabazillus (Levinthal, Bieling), des Keuchhustenbazillus (Bordet und Sleeswijk) u. a. m. Auch hier ist die Festigung der Typen in wechselndem Sinne ausgeprägt, u. U. irreversibel, wie beim Typus IV des Influenzabazillus, oder es gelingt die Umwandlung in einer oder in beiden Richtungen oder es finden sich Zwischenformen. Von größerer praktischer Wichtigkeit sind nun aber die im übrigen den bisher genannten durchaus analogen Fälle, in denen die Differenzierung der Typen sich nicht nur in kulturellen und serologischen Merkmalen, sondern auch in verschiedener pathogener Wirkung ausprägt, weil hier die Schwere der klinischen Erkrankung je nach dem Typ des Erregers sehr verschieden sein kann und vor allem, weil die Serum- oder Vakzinetherapie versagt, wenn sie nicht mit dem strikt homologen Stamm ausgeführt wird. So gibt es 4 Typen von Pneumokokken (Neufeld, Haendel, Yoshioka und amerikan. Autoren), 4 Typen von Gonokokken (Jötten), mehrere Typen des Bac. botulinus, des Gasbrandbazillus, des Bazillus des malignen Oedems (Klose, Ficker) und des Rauschbrandbazillus.

Wir sehen also eine kontinuierliche Entwicklungsreihe, angefangen von praktisch für die Pathogenese belangloser kultureller und serologischer Differenzierung, weiter die Entstehung charakteristischer pathogener Typen, die aber noch immer der gleichen klinischen Krankheitseinheit angehören, bis endlich zur Ausbildung getrennter, wenn auch mehr oder minder nahe verwandter Arten, denen ebenso deutlich getrennte, wenn auch einander ähnliche Krankheitseinheiten entsprechen. Was wird unter diesen Umständen aus der Konstanz und Spezifität der Art und wo liegen die Grenzen des Speziesbegriffs? Selbstverständlich läßt sich dieser Begriff nicht mehr in jenem starren, unwandelbaren Sinne auffassen, wie etwa zur Zeit Cuviers; dagegen hat Plate eine Definition des Artbegriffs gegeben, die diesen Verhältnissen Rechnung trägt, wenn er die Art bezeichnet als Vielheit von Individuen, die in ihren sichtbaren Eigenschaften innerhalb eines gewissen Spielraums einander gleich sind . . . und deren Nachkommen wieder in einem gewissen Spielraum die Eigenschaften der Eltern aufweisen. Die systematische Art, deren Abgrenzung in erster Linie nach praktischen Gesichtspunkten sich vollzieht, ist ein Gemenge natürlicher Arten, d. h. genetischer Einheiten im Sinne von de Vries und Johannsen. Sehr treffend bezeichnen Andrews und Winslow den Artbegriff als Variationszentrum, um das herum in einer gewissen Streuungsweite die einzelnen Varianten Platz finden. Uebereinstimmend betonen endlich Eisenberg und Braun, daß für die Abgrenzung der Art nicht nur diejenigen Merkmale in Betracht kommen, die konstant vorhanden sind, sondern auch in negativem Sinne diejenigen, die niemals vorkommen, und endlich diejenigen, die Schwankungen unterworfen sind, wobei die Schwankungsbreite in ihrer Abhängig-

keit von auslösenden Faktoren wiederum für die betr. Art charakteristisch sind. Wir gelangen so zu einem dynamischen Speziesbegriff, der alle Verwirklichungsmöglichkeiten in sich schließt, im Gegensatz zu dem früheren statischen Artbegriff, der nur die am häufigsten realisierten Modalitäten in sich umfaßte (Eisenberg). Der Begriff der Art hat in den biologischen Wissenschaften und insbesondere in der Mikrobiologie eine ganz ähnliche Fortentwicklung erfahren, wie in der modernen Chemie der Begriff des Elements. Wo früher im natürlichen System der chemischen Elemente ein unwandelbares Element mit ein für allemal festgelegtem Atomgewicht stand, da steht heute eine Mehrheit von Typen, eine sog. Plejade isotoper Elemente, die zwar nach ihrer chemischen Verwandtschaft gleich, nach dem Atomgewicht aber deutlich verschieden sind und z. B. wie beim Cl durch ihre verschiedene Diffusionsgeschwindigkeit räumlich getrennt werden können. So gibt es u. a. mindestens 2 verschiedene Cl vom Atomgewicht 35 und 37, 2 verschiedene Si, 2 verschiedene Cu, 2 verschiedene Ni, 2 verschiedene Pb mit den Atomgewichten 206 und 208, und nicht weniger als 7 (vielleicht sogar 9) Isotope des Xenon mit Atomgewichten, die von 124 bis 136 auseinanderliegen[1]). Alles das ist hier sowohl, wie in der Biologie nur unter dem Gesichtspunkt der Entwicklung verständlich; in manchen Fällen, wie beim Pb können wir sogar die Ursache der Verschiedenheiten angeben, indem das vom U als Restprodukt des radioaktiven Zerfalls abstammende Pb das Atomgewicht 206, das vom Th abstammende dagegen das Atomgewicht 208 hat.

Wie weit sind wir heute über Ursache und Bedingungen der Variabilität im Reiche der Mikroorganismen unterrichtet? Da müssen wir zunächst das Gebiet der Variabilität scharf abgrenzen von nahe verwandten Gebieten. Nicht jeder auffallende Befund, der an einem Mikroben in Erscheinung tritt, ist schon Ausdruck der Variabilität: es kann sich auch um besondere Wuchsformen handeln, die nur unter ganz bestimmten Verhältnissen beobachtet werden, z. B. Verzweigungen bei Diphtherideen, säurefesten Bazillen und Spirochäten (Meirowsky), und jene eigenartigen schon erwähnten besonderen Formen, wie sie von Almquist, Ph. Kuhn u. A. in künstlichen Kulturen verschiedener Bakterien festgestellt sind. Solche Beispiele gehören wahrscheinlich in den Rahmen der allgemeinen funktionellen Abhängigkeit der biologischen Leistungen von den äußeren Bedingungen hinein. In unzähligen Beispielen läßt sich nachweisen, wie der Stoffwechsel, die Gärungs- und Fermenttätigkeit, die Bildung von Farbstoffen, die Sporulation usw. von den äußeren Bedingungen wie Temperatur, O_2-Zutritt, Nährstoffen u. dgl. abhängt; selbst so charakteristische morphologische Merkmale, wie etwa die Säurefestigkeit (Korff-Petersen) oder das Verhalten gegenüber der Gramschen Färbung (Cederncreutz, Comberg) sind weitgehend von den äußeren Bedingungen abhängig, wie etwa vom Aufenthalt im Tierkörper, vom Eiweiß- und Fettgehalt des Nährbodens, von der Einwirkung von Fermenten u. a. Andererseits zeigt jede Kultur individuelle Differenzen zwischen den einzelnen sie zusammensetzenden Keimen, wofür wiederum Beispiele aus allen Einzelgebieten ge-

1) Ich verdanke diese neueste Zusammenstellung einer freundlichen Mitteilung von Herrn Privatdozent Dr. Stintzing vom physikal.-chemischen Institut Giessen.

bracht werden könnten; ganz besonders charakteristisch und in Gestalt der aus der Kollektivmaßlehre wohlbekannten binominalen Variationskurve darstellbar ist z. B. die Größenbestimmung der einzelnen Individuen einer Kultur, wie sie von Trotzky und Baruch ausgeführt worden ist. Während hier die Abweichungen lediglich den Gesetzen der Wahrscheinlichkeitsrechnung folgen und die einzelnen Varianten sich so um den Mittelwert gruppieren, daß nach beiden Seiten ihre Anzahl um so geringer wird, je größer die Abweichungen vom Mittelwert ausfallen, folgen andere Beispiele der individuellen Variation ganz anderen Gesetzen, z. B. das anläßlich unserer letzten Tagung von Reichenbach vorgetragene Verhalten der Widerstandsfähigkeit der Einzelkeime einer Kultur; hier ist gerade die Zahl der Individuen von geringster Resistenz am größten und nimmt die Zahl der Varianten nur einseitig mit dem Grade ihrer erhöhten Widerstandsfähigkeit ab. Es fragt sich, welche biologischen Ursachen — außerhalb der den Gesetzen der Wahrscheinlichkeitsrechnung folgenden rein zufälligen Variation — die individuellen Differenzen der Keime innerhalb einer Kultur bestimmen mögen. Da kommen zunächst Altersunterschiede in Betracht; wir wissen, daß eine bei Bruttemperatur gehaltene Kultur schon zwischen 12 und 20 Std. die Akme ihrer Entwicklung erreicht und daß infolge des durch Nahrungsmangel und Schädigung durch regressive Stoffwechselprodukte rapid einsetzenden Absterbevorgangs schon nach 48 Stunden kaum mehr 5—10 Prozent der Keime am Leben sind, die auf dem Höhepunkt der Entwicklung vorhanden waren. Aber es ist auch möglich, daß schon von vornherein, im Augenblick des Entstehens, die Keime infolge erbungleicher Teilung biologisch verschieden sind, worauf der Gießener Botaniker E. Küster in seiner Studie über Altern und Tod hingewiesen hat. Berücksichtigt man, daß z. B. bei großen Spirillen, die an beiden Enden je ein Geißelbüschel tragen, nach erfolgter Querteilung die beiden neuen Individuen an ihren beiden Polen je ein altes und ein neues Büschel besitzen, so ist damit eine mit der Teilung selbst naturnotwendig verbundene Altersverschiedenheit gegeben, die mit fortschreitenden weiteren Teilungen immer schärfer hervortritt, wie sich an Diatomeen durch Messung ihrer Schalenanteile direkt feststellen läßt. Ob mit solchen Altersdifferenzen nicht auch eine verschiedene biologische Wertigkeit verbunden sein mag? Fleischer hat zwar beim Bac. subtilis bis zur 6. Generation keinen Unterschied in der Teilungsenergie beobachten können, aber ein solcher könnte vielleicht später hervortreten oder doch trotz scheinbar gleichmäßiger Vermehrung eine sonstige Verschiedenheit der Leibessubstanz der einzelnen Keime vorhanden sein. Hierfür spricht eine direkte Beobachtung von Jennings an Paramäcien; eine an einem Individuum beobachtete Mißbildung blieb bei der Teilung immer wieder an dieser einen Zelle haften, so daß sie schließlich unter der großen Zahl der Nachkommen noch deutlich erkannt werden konnte. Gründe genug für Ausbildung individueller Differenzen innerhalb eines Stammes sind also vorhanden, und durch Auslese gelingt es, diese Varianten getrennt vom normalen Durchschnittstyp zu gewinnen und in Reinkultur fortzuzüchten. Auf die Wichtigkeit der Auslese für die Variabilitätsforschung bei den Mikroorganismen hat schon Kruse i. J. 1896 hingewiesen; in den sonst gebräuchlichen Massenkulturen auf Schrägagar u. dgl. kommen einzelne selbst weit vom Durchschnittstypus

divergente Varianten überhaupt nicht zur Beobachtung. Am exaktesten würde diese Auslese durch den Mikromanipulator van Schoutens gelingen, — eine allerdings recht komplizierte und schwierig zu bedienende Apparatur, die es aber gestattet, beliebig auszuwählende Einzelkeime aus ihrem Verbande zu lösen, und in Einzellkultur zu bringen. Einfacher ist das Burrische Tuscheverfahren, mit dem es gleichfalls gelingt, einzelne Keime zu isolieren und weiter zu züchten, und das auch schon systematisch durch Benecke, Baerthlein und Burri selbst zu Variabilitätsstudien bei Mikroorganismen herangezogen worden ist; doch ist das Verfahren nicht ganz zuverlässig, da sich andere Keime im Tuschetröpfchen verstecken können, und überdies nicht für alle Bakterien, z. B. Cholerabazillen, anwendbar. In der Regel wird man mit der Auslese einzelner Kolonien von dem klassischen R. Kochschen Gußplattensatz auskommen, insbesondere nach mehrfach hintereinander wiederholter Aussaat auf Platten; die Wahrscheinlichkeit, daß man bei diesem Verfahren auf eine Kolonie trifft, die aus mehr als einem Keime entstanden ist, beträgt nach Eisenbergs Berechnungen nach 8maliger Plattenkultur selbst im ungünstigsten Falle nur etwa 1:6500, ist also praktisch annähernd Null. Eine sehr wirksame Auslese kann durch Massenverimpfung erfolgen; in dieser Weise konnte ich mich seinerzeit beim Studieren einer ganz avirulenten und auch sonst atypischen Pestkultur (durch Verimpfung von 10 ganzen Agarkulturen im Tierversuch mit negativem Ausfall) davon überzeugen, daß diese Kultur nicht etwa eine kleine Minderheit typischer Bazillen enthielt und daß demgemäß der nach einigen Wochen eingetretene Rückschlag zur Virulenz wirklich durch Variieren, in diesem Falle durch atavistischen Rückschlag, entstanden war; umgekehrt konnte Braun durch Massenverimpfung eines Typhusstammes auf einen Nährboden, in dem als einzige N-Quelle NH_3 vorhanden war, selbst ganz vereinzelte Individuen, die zur NH_3-Assimilierung befähigt waren, dem positiven Nachweis zuführen. Uebrigens erzeugt die Auslese an sich kein Variieren, bei den Mikroorganismen ebensowenig, wie bei den höheren Lebewesen, sondern sie vermag nur die einmal entstandenen Varianten festzuhalten.

Zwischen der individuellen Variationsbreite und der funktionellen Abhängigkeit der Lebensprozesse von den äußeren Bedingungen besteht nun ein Zusammenhang in dem Sinne, daß beim Optimum der Existenzbedingungen die individuelle Variationsbreite ein Minimum darstellt, während bei schädigenden oder auch nur ungewohnten Lebensbedingungen die stärker abweichenden Varianten viel mehr hervortreten und der (eben nur den optimalen Bedingungen angepaßte) Normaltyp nunmehr in geringerer Zahl vorhanden ist. Manchmal freilich tritt Variieren scheinbar ohne jede äußere Veranlassung auf, wie das z. B. von Kolle und v. Wassermann bei Züchtung von Meningokokken im Sinne von Virulenzschwankungen, und zwar sowohl nach der negativen wie nach der positiven Seite hin beobachtet ist; ja man kann bei manchen Mikroben direkt eine „sensible Periode" feststellen, in denen sie der Variabilität besonders unterliegen. Das Verständnis dieses scheinbar ganz spontan von innen heraus zustandekommenden Variierens wird durch die Beobachtungen Baerthleins an alten Kulturen in flüssigem Medium sehr gefördert: hier zeigt sich durch Anhäufung der Stoffwechselprodukte die Tendenz zum Variieren zunächst vermehrt, und während dieser optimalen Periode erreicht

die Zahl der nach verschiedenen Richtungen gehenden und in verschiedenem Grade ausgeprägten Varianten ein Maximum, um später bei stärkerer Schädigung durch die Stoffwechselprodukte wieder zurückzugehen. Wir müssen uns also wohl vorstellen, daß in den Fällen scheinbar ganz spontan und ohne jede äußere Veranlassung auftretenden Variierens das Ergebnis einer u. U. weit zurückliegenden latenten Beeinflussung vorliegt und daß dann das mit Mühe aufrecht erhaltene labile Gleichgewicht bei einer neuen für uns unmerklichen Einwirkung sofort umschlägt.

Die Bewertung und die damit zusammenhängende Namengebung für die verschiedenen entstehenden Varianten richtet sich nach folgenden verschiedenen Gesichtspunkten:

1. Stellt die Variante eine Anpassung an die neuen Verhältnisse der Umgebung, speziell auf einen adäquaten Reiz dar oder erfolgt sie richtungslos? Ersteres beobachten wir bei den sog. Standortsmodifikationen sowie als Anpassung an ungünstigere Ernährungsverhältnisse im Sinne der Ersparnis minder lebenswichtiger Funktionen: hier spielt wohl die Auslese eine besonders wichtige Rolle, indem unter den neuen Bedingungen ausschließlich oder doch vorwiegend diejenigen Individuen übrigbleiben, die dieser veränderten Lage von vornherein angepaßt waren. Daß übrigens durchaus nicht jeder Reiz imstande ist, Variation auszulösen, das lehren u. a. die Beobachtungen von R. Müller, der bei Einwirkung fremder Zuckerarten u. U. unter 18 solcher Zucker nur bei einem einzigen Gärfähigkeit auftreten sah. Ein richtungsloses Variieren können wir dann annehmen, wenn entweder unter denselben äußeren Umständen, z. B. in der gleichen alten Bouillonkultur, gleichzeitig Varianten in entgegengesetzter Richtung, z. B. betr. der Größe der Kolonien oder der Intensität des Gärvermögens entstehen; doch macht Bernhardt hiergegen geltend, daß in einer und derselben Kultur schon zwischen Oberfläche und Tiefe ganz verschiedene Lebensbedingungen existieren können und daß man demnach nicht von dem Auftreten divergenter Varianten überrascht sein darf. Oder die Variation tritt zwar nachweislich im Anschluß an eine äußere Einwirkung auf, aber in einem ganz anderen als dem erwarteten Sinne und ohne daß irgendeine qualitative Aehnlichkeit zwischen dem Reiz und der Variante vorliegt; so z. B. wenn Seiffert nach Malachitgrünfestigung von Colistämmen ein vorher nicht vorhandenes Zuckervergärungsvermögen entstehen sah, oder Marks bei einem arsenfesten Stamm von Paratyphus Veränderungen in seiner Agglutinabilität beobachtete. Analoga für solche richtungslose Reaktionen haben wir ja heute in den heterogenetischen Antikörpern, die zuerst von Forssman beobachtet und später insbesondere von Friedberger und Schiff eingehend studiert worden sind. Uebrigens ist nicht zu vergessen, daß scheinbar ganz auseinander liegende Merkmale funktionell eng verbunden sein können (wie z. B. Kapselbildung und Virulenz), und daß durch eine solche Korrelation scheinbar richtungslose Varianten entstanden sein können. Diese Fragestellung nach adäquatem oder richtungslosem Variieren ist also nicht fruchtbar und fällt daher für die Beurteilung am besten weg.

2. Viel wichtiger ist die Frage, ob die Variation allmählich oder plötzlich entstanden ist; das sprunghafte Auftreten der Varianten ist gerade bei der Entdeckung der Mutation durch de Vries als besonders charakteristisch für diese neue Form des Vari-

ierens angesehen worden, während bei allmählicher Anpassung wohl meist das Ergebnis der Selektion vorliegt. Man hat zwar eingewendet, daß eine sprunghafte augenblickliche Variantenbildung bei Bakterien schon deshalb nicht feststellbar sei, weil in den gebräuchlichen 12—24stündigen Kulturen schon eine Folge von 24—48 Zellteilungen mit ebenso vielen Generationen vorliegt und im Laufe dieser letzteren eine Summation ursprünglich kleinerer Abänderungen zustande gekommen sein könne. Aber abgesehen davon, daß dieser Einwand erst recht die Verhältnisse bei höheren Lebewesen treffen würde, verfügen wir doch bei den Mikroorganismen über einige unzweifelhafte Fälle von Bildung von Varianten innerhalb einer so kurzen Zeitspanne, daß während derselben höchstens 2 Zellteilungen stattgefunden haben können, so insbesondere die Umzüchtung der hämolytischen in vergrünende Streptokokken durch Aufenthalt im Körper der Maus schon binnen 1—2 Std. (Schnitzer und Munter, Kuczynski und Wolff); hierher gehört auch eine Beobachtung von Mendelssohn aus dem Jahre 1902, der bei Paramäcien schon nach wenigen Stunden der Wärmeeinwirkung ihr Wachstumsoptimum um 5° hinaufgehen sah.

3. Am bedeutsamsten ist die Feststellung, ob die Variante den zu ihrer Entstehung führenden äußeren Reiz überdauert oder nach kürzerer oder längerer Zeit wieder verschwindet; u. U. erfolgt der Rückschlag auf den alten normalen Typus ganz plötzlich. Eine absolut scharfe Grenze zwischen reversibler und irreversibler Veränderung ist ja allerdings nicht möglich; aber wir verfügen doch über extreme Beispiele nach beiden Richtungen hin, über deren Zugehörigkeit kein Zweifel herrschen kann. Einerseits sehen wir die gewöhnlichen Standortsmodifikationen sehr rasch verschwinden, andererseits z. B. das Variolavirus und das Straßenvirus der Lyssa durch Passage in bestimmten Tieren rasch und dauerhaft verändert werden und die entstandenen Abarten des Kuhpockenvirus und das Lyssapassagevirus bei jahrzehntelanger Beobachtung durchaus konstant bleiben; es ist noch nie vorgekommen, daß aus Vakzine wieder Variola oder aus Kaninchenpassagevirus wieder Straßenvirus entstanden und die entsprechenden Infektionskrankheiten durch die betr. Schutzimpfung beim Menschen hervorgerufen worden wären. In den weitaus meisten Fällen des Studiums von Variabilität verfügen wir freilich nicht über solche jahrzehntelangen Beobachtungen an vielen Tausenden von Menschen, die eine zweifellos irreversible Umwandlung verbürgen. Bei sporenbildenden Bakterien ist der Nachweis wertvoll, ob die Variante auch die Sporulation überdauert (wie z. B. von Laurent für Kartoffelschmarotzer beobachtet), während in der Regel in der ruhenden Spore, wie überhaupt im latenten Leben, z. B. beim Stehenlassen von Kulturen unterhalb ihres Entwicklungstemperaturminimums besonders leicht der Rückschlag auf den normalen Typ erfolgt. Ausschlaggebend, aber freilich nur für Mikroorganismen mit geschlechtlicher Vermehrung anwendbar, ist die Prüfung, ob die Variante auch die Konjugation überdauert; während z. B. arsenfeste Trypanosomen, die dauernd in diesem Sinne umgestimmt schienen, nach der Passage durch den Zwischenwirt, in dem die geschlechtliche Vermehrung stattfindet, sofort wieder auf den alten Typ zurückschlugen (Gonder) und auch in den meisten Fällen die Hitzegewöhnung des Paramäciums nach dem Konjugationsakt sofort verloren ging, konnte doch Jollos

in einigen Fällen eine solche Festigung der neuen Variante konstatieren, daß sie auch die Konjugation überdauerte und hier also ganz unzweifelhaft eine Vererbung einer erworbenen Eigenschaft bei Einzellern vorliegt, eine Feststellung von ganz außerordentlicher grundsätzlicher Bedeutung! Es existiert offenbar auch im lebenden Plasma der Einzeller einerseits das vegetative Zytoplasma, andererseits der Träger der Erbmasse, das Keim- oder Idioplasma; ersteres wird von äußeren Einwirkungen relativ leicht umgestimmt, aber nach Aufhören des Reizes rasch wieder durch die Wirkung des Keimplasmas früher oder später zur Norm zurückgeführt.

Hiernach ergibt sich für die Namengebung zunächst ganz einwandfrei die Festlegung der beiden Extreme an beiden Enden der durch die Variabilität bedingten Entwicklungsreihe:

a) die Modifikation (v. Nägeli) als Umstimmung des vegetativen oder Zytoplasmas durch den äußeren Reiz, die nach Aufhören desselben früher oder später zur Norm zurückkehrt. Die als Ersatz für diesen ursprünglich von Naegeli geprägten und überaus bezeichnenden Ausdruck „Modifikation" vorgeschlagenen Namen der Adaption, Akkommodation, Transformation (Hansen), Phäno- (Schmitz) oder Paravariation (Siemens) sind entbehrlich und bieten vor dem v. Naegelischen Terminus keinerlei Vorteil.

b) Am anderen Ende der Reihe steht die Mutation (de Vries), beruhend auf genotypischer Aenderung und darum vererbbar; wenn auch zweifellos durch äußere Einwirkungen begünstigt, so doch in erster Linie durch innere Anlagen des Ausgangsstamms bedingt und daher oft scheinbar spontan und sprungweise auftretend. Andere Benennungen hierfür wie Geno- (Schmitz) oder Idiovariation (Siemens), Dauer- oder Sprungvariation (Baerthlein), Fluktuation nach Pringsheim, Allogonie (Reinke und E. Lehmann) bieten keinen vollgültigen Ersatz und müssen schon aus historischer Gerechtigkeit gegenüber der epochemachenden Entdeckung von de Vries zurücktreten.

Zwischen diesen beiden Extremen müssen nun auch noch einige charakteristische Stadien der Variabilität besondere Namen erhalten. Es sind dies zunächst die Dauermodifikation (Jollos) und die Alternation (Toenniessen). Die erstere wird in praxi bei asexuell sich fortpflanzenden Mikroorganismen von der echten Mutation meist nicht sicher getrennt werden können; aber schon die grundsätzliche Feststellung der Möglichkeit, daß durch Hunderte von Generationen eine dauernde scheinbar erbliche Veränderung der Nachkommen besteht ohne wirkliche Veränderung des Keimplasmas, ist so wichtig, daß ein besonderer Name hierfür berechtigt erscheint. Wenn man bedenkt, daß in der 1000sten Generation nur noch ein Bruchteil von etwa 10^{-300} des Ausgangsmaterials enthalten ist, so wird man eine solche Dauermodifikation entweder so erklären müssen, daß das Keimplasma — wenn auch nicht strukturell abgeändert,. so doch in einigen seiner Funktionen gehemmt ist, eine Hemmung, die durch die Konjugation wieder beseitigt wird; oder es bietet sich nach Analogie des d'Herelleschen Phänomens die Möglichkeit, daß ein umgestimmter Teil des vegetativen Zytoplasmas selbst, wie der Bakteriophag, sich bei jeder Zellteilung mit vermehrt; die auffallende Tatsache, daß gerade während des latenten Lebens, in kalt aufbewahrten Kulturen, ein Rückschlag zur Norm auftritt, findet hier eine Erklärung, weil der als abnormes

Ferment wirkende Anteil des Plasmas eben nur während der aktiven Vermehrung selbst sich zu vermehren vermag, im latenten Leben der Zelle aber bald zum Erliegen kommt. Die von Reichenbach vorgeschlagene Bezeichnung „induzierte Modifikation" würde in diesem Sinne zu interpretieren sein, bietet aber ebenso wie die „Klonumbildung" E. Lehmanns keinen Vorteil und läßt gerade das charakteristische Merkmal der Dauerhaftigkeit vermissen. Die Alternation (E. Toenniessen) ist ein überaus charakteristischer Zustand, dadurch ausgezeichnet, daß von seiten eines Typs immer wieder Abspaltung der Variante erfolgt, welch letztere sich in hohem Grade stabil erweist, wie z. B. beim Bact. coli mutabile und bei den von Toenniessen selbst beobachteten Erscheinungen am Bac. Friedländer. Toenniessen selbst führt diese Erscheinung (in deren Kreis die meisten der sog. Bakterienmutationen hineingehören) auf Valenzwechsel von Erbfaktoren zurück. Der Name „zirkuläre Variation", der hierfür von Schmitz vorgeschlagen wurde, ist weniger glücklich, weil ja die Variation gar nicht im Zirkel, sondern meist nur in einer Richtung vor sich geht. — Schließlich wäre noch ein besonderer Name für diejenigen Fälle dauernder Umstimmung von Mikroorganismen angebracht, in denen sprunghaft sämtliche Individuen der Kultur, nicht nur ein Bruchteil derselben wie bei der echten Mutation und bei der Alternation, umgeändert werden und demnach die Kultur als Ganzes variiert, während die durch Mutation und Alternation entstandenen Varianten neben der Ausgangsform als Knöpfe oder auf den Kolonien als Sektoren erscheinen. Für solche Fälle der Variation in toto z. B. bei der Umzüchtung von Variola- in Vakzinevirus, sowie von Straßen- in Passagevirus der Lyssa, würde sich der Ausdruck „physiologische Artbildung" eignen, den Beijerinck zur Bezeichnung der Variabilität des „Nitrobacter oligotrophum" wählte; dieser Bazillus geht bei Anwesenheit reichlichen organischen Nährmaterials in die irreversible Abart, „Nitrobacter polytrophum", einen scheinbar banalen Saprophyten, über.

Nun erhebt sich noch die Frage, ob und inwieweit bei dem Variieren wirklich neue Eigenschaften erworben werden können. Die meisten Produkte der Variabilität sind ja Verlust- oder Minus-Varianten, was übrigens keineswegs mit Degeneration gleichbedeutend zu sein braucht; vielmehr kann eine solche Minusvariante nicht nur sehr üppig auf künstlichen Nährböden gedeihen, sondern selbst im infizierten Organismus, wie das Beispiel des Metatyphusbazillus besagt. Bei den Gewinn- und Plusvarianten fragt es sich, ob die erworbenen Eigenschaften wirklich neu sind oder nicht vielmehr eine Wiedererweckung früher latenter, phylogenetisch vielleicht weit zurückliegender Merkmale und Fähigkeiten darstellen. Diese Erklärung ist gewiß für viele Fälle, selbst solche sehr auffallender Natur, möglich und wird z. B. von Kruse für die Pigmentbildung hochvirulenter Streptokokken als Rückschlag auf saprophytische Ahnen zugegeben; auch für die seinerzeit in K. B. Lehmanns Institut beobachtete Umwandlung des vorher unbeweglichen geißellosen Bac. implexus in einen eigenbeweglichen geißeltragenden Bazillus wäre sie nicht von der Hand zu weisen. Aber für manche andere Fälle ist sie doch gezwungen oder selbst ganz unmöglich, z. B. für die Neuerwerbung von Fermenten gegenüber ganz ungewöhnlichen Stoffen (Tannin, Inulin u. a.), mit denen der betr.

Mikrob in seiner phylogenetischen Entwicklung kaum je in Kontakt gekommen sein kann (zit. nach Pringsheim) oder für die Umzüchtung einer harmlosen Wasserspirochäte aus Berliner Wasserleitungshähnen in die pathogene Sp. icterogenes (Uhlenhuth und Zuelzer) oder für die Ausbildung von besonderen Haftorganen (Epimeriten) bei pathogenen Gregarinen (Hartmann) oder endlich für den von Dallinger beschriebenen Fall von Hitzegewöhnung von Monadinen an eine Temperatur von 70°, eine Gewöhnung, die erst binnen mehreren Jahren erzielt werden konnte und wobei mehrfach vorübergehend die Kultur wieder bei etwas herabgesetzter Temperatur gehalten werden mußte, um nicht ganz einzugehen, was doch beweist, daß tatsächlich früher solche hitzebeständige Paramäcien nicht darin enthalten waren, und also nicht etwa durch Auslese, sondern durch tatsächliche Umstimmung erzielt wurden. Das letzte entscheidende Wort bezüglich der Erwerbung neuer Eigenschaften hat die Epidemiologie zu sprechen, wenn sie zweifelsfrei das Auftreten von Seuchen in der Geschichte aufzeigt, die vorher nicht vorhanden waren.

Wir haben gesehen, daß die Tatsachen der Variabilität widerspruchslos und als zusammenhängendes Ganzes vom Standpunkt der Entwicklung aus gedeutet werden können. Nun bleibt noch die Schlußfrage nach der Möglichkeit einer kausalen Erklärung. Am einfachsten ist die Sachlage bei den Minusvarianten, die, je nach dem Grade, eine Hemmung oder einen vollständigen Verlust gewisser Eigenschaften und Leistungen aufweisen; wir können uns das so vorstellen, daß unter ungünstigen Lebensbedingungen minder wichtige Funktionen eingestellt werden, wie wir das ja im Hungerzustand auch von höheren Organismen kennen; es handelt sich um atrophische Mißbildungen (Braun), um Erschöpfungs- oder kachektische Zustände (Börnstein); solche Varianten stehen darum oft auch an der Grenze der Lebensfähigkeit und lassen sich u. U. überhaupt nicht mehr weiterzüchten, wie das bei der Umzüchtung hämolysierender Streptokokken in vergrünende von den Schülern Morgenroths im Peritoneum der Maus, sowie ganz neuerdings bei der Passage durch Haut und Schleimhäuten von Neufeld und Killian beobachtet wurde; endlich gehören hierher die Beziehungen zwischen den sog. Bakteriophagen und lebenden Bakterien, die nach den neuesten Forschungen von Otto und Munter, Seiffert, Bail und Okuda zur Entstehung von Varianten führen, in deren Zelleib die der Struktur des betr. Bakteriophagen entsprechende Gruppe fehlt und demnach dauerhafte Minusvarianten entstehen. Bail drückt das in treffender Weise so aus, daß durch Einwirkung verschiedener Bakteriophagen geradezu eine Analyse der Gruppenzusammensetzung des Bakterienleibes möglich wird, wobei allerdings der mehrmaligen Behandlung des Bakteriums mit verschiedenen Bakteriophagen nacheinander sehr bald eine Grenze gesetzt ist, da nach Verlust mehrerer lebenswichtiger Gruppen im Zelleib das Fortbestehen des Lebens selbst in Frage gestellt wird. Hier haben wir schon eine klare strukturchemische Vorstellung, wie uns solche in anderer Gestalt auch zum Verständnis der Plusvarianten sowie der Umwandlungen eines Typs in den anderen führen werden. Zweierlei gibt es hierbei zu erklären: einerseits den Mechanismus der Umstimmung durch äußere Reize, andererseits das Zustandekommen sprunghafter Umwandlungen des einen Typus in den anderen, wie wir sie insbesondere bei der Alternation und Mutation beobachten. In ersterer Beziehung bietet die Erkennt-

nis der Zustandsspezifität, wie sie uns durch die Forschungen von Pick und Obermayer, Paltauf, Landsteiner, Altmann und Rauth vermittelt wurde, eine zureichende Erklärung: wenn wir sehen, daß methyliertes, acetyliertes, jodiertes u. dgl. verändertes Eiweiß neben seiner Artspezifität noch eine besondere Zustands- oder chemischkonstitutive Spezifität erwirbt — ein Vorgang, auf dem ja auch innerhalb desselben Organismus die verschiedene Spezifität der einzelnen Organe im Gewebe beruht — so verstehen wir, daß nach abnormen chemischen Einwirkungen (wie in alten Kulturen, im Tierkörper u. dgl.) eine weitgehende Umstimmung des Bakterienplasmas zustandekommen kann, die dann ihren Ausdruck in Veränderung der Funktion, d. h. eben in Variantenbildung findet. Wendet man etwa ein, daß hiernach nur die Variabilität durch chemische, nicht aber durch physikalische Einflüsse (z. B. Erhitzung) erklärt werde, so wolle man bedenken, daß es sich bei diesen physikalischen Einwirkungen sekundär zum Teil auch wieder um chemische Zustandsänderungen infolge Beeinflussung der eigenen Stoffwechselprodukte der Kultur handelt, wie sich z. B. in der Abhängigkeit der Hitzeresistenz von der Dichte der Emulsion zeigt; gerade über diesen Punkt sind in letzter Zeit mehrere Untersuchungen in meinem Institut von Göbel, Behrens und Kliewe angestellt worden und liegen grundsätzlich ähnliche Befunde auch von Lange und Potthoff vor. Auch an gewisse neuere Anschauungen aus dem Gebiete der Kolloidchemie mag in diesem Zusammenhang erinnert werden; Wo. Pauli macht darauf aufmerksam, daß bei einem und demselben Kolloid, z. B. $Fe(OH)_3$, ein verschiedenes Verhalten verschiedener Sole nicht, wie man einseitig betont hatte, allein durch Unterschiede des Dispersitätsgrades, sondern auch durch solche der chemischen Konstitution bedingt wird; es entstehen dann durch Anlagerung von Zwischenprodukten der Hydrolyse des $FeCl_3$ lockere Doppelverbindungen wie etwa $[x\ Fe(OH_3) \cdot y\ FeOCl \cdot FeO]$, und zwar in sehr verschiedenen Mengenverhältnissen von x und y und entsprechend von verschiedener Beschaffenheit. So viel über die Erklärung der Variantenbildung unter dem unmittelbaren Einfluß äußerer Faktoren.

Was endlich die Entstehung sprunghafter Varianten scheinbar spontan aus inneren Gleichgewichtsstörungen des Mikroben betrifft, wobei äußere Reize jedenfalls nur als Auslösungsmomente in Betracht kommen, so ist auch hier eine klare, strukturchemische Vorstellung möglich. Zunächst steht fest, daß diese sprunghaft entstehenden Varianten bei einem gegebenen Mikroben nicht etwa in unbeschränkter Zahl und in ganz willkürlichen Richtungen entstehen, sondern in präformierten oder immanenten Bahnen erfolgen, wie das treffend von Bail und Schiemann ausgedrückt wird. Bei verschiedenen Stämmen eines Mikroben und auch bei einem und demselben Stamm zu verschiedenen Zeiten treten nicht beliebige, sondern häufig dieselben Varianten auf und auch ganz verschiedene Spezies, wie z. B. Fluorescens und Choleravibrio zeigen nach den Feststellungen von Nyberg, Baerthlein und Eisenberg in ihrem Variieren große Uebereinstimmung, was auf ganz allgemeine biologische Gesetzmäßigkeiten deutet. Die Zahl dieser präformierten Möglichkeiten bei einer und derselben Spezies kann sehr groß sein; so fand Eisenberg unter den von ihm nach den Regeln der Kombinatorik

aus der Zahl der Einzelfaktoren berechneten 56 Möglichkeiten beim Bac. prodigiosus nicht weniger als 22 realisiert, von denen 12 mit solchen von Beijerinck beobachteten übereinstimmten, was auch wieder die präformierte Existenz derselben Anlagen in ganz verschiedenen Stämmen und unabhängig von Ort und Zeit beweist. Blaringham und Nyberg haben diese präformierten Anlagen sogar direkt als Gleichgewichtszustände bezeichnet, die je nach den Existenzbedingungen ineinander umschlagen können, und auch die von Toenniessen eingeführte Bezeichnung Alternation besagt dasselbe. Es gilt nun, dieser bisher nur bildhaften Ausdrucksweise eine klare strukturchemische Grundlage zu geben, und das gelingt im Sinne der **Tautomerie.** Lassen Sie mich, bitte, zum Schluß meines Referats diese **neue strukturchemische Anschauung von der Variabilität** mit wenigen Worten entwickeln. Als tautomer bezeichnet man bekanntlich solche chemische Verbindungen, die nicht nur eine, sondern 2 oder mehrere Strukturformeln haben, wie sich insbesondere daraus ergibt, daß ihre Derivate eindeutig in 2 verschiedenen Strukturen existieren. Der Ausgangsstoff existiert also in 2 oder mehr verschiedenen Gleichgewichtslagen, zwischen denen ein beständiges Hin- und Herpendeln stattfindet, während die abgeleiteten (substituierten oder addierten) Verbindungen nur noch in einer der beiden Formeln und nur in gefestigtem Zustande existieren. Das einfachste Beispiel ist die Blausäure, deren Struktur zwischen den beiden Formeln $H \cdot C \equiv N$ (Cyanwasserstoff) und $C \equiv N - H$ (Carbimid) schwankt; die abgeleiteten Reihen der Nitrile ($N \equiv C - CH_3$) und Isonitrile ($C \equiv N - CH_3$) sind eindeutig und gefestigt. Auch der chemische Valenzwechsel vom 3wertigen zum 5wertigen N ist hier zu sehen, wie das Toenniessen mit demselben Wort, allerdings in anderer, in biologischer Bedeutung zur Charakterisierung der von ihm beschriebenen Alternation bezeichnet. Diese beiden chemischen Strukturen sind nicht etwa nur hypothetische Annahmen, sondern existieren tatsächlich schon im Ausgangsmaterial, dem sog. allelotropen Gemisch und können sogar u. U. mit gewissen Kunstgriffen, die eine Verlangsamung der Reaktionsgeschwindigkeit bewirken, isoliert werden; dann spricht man von Desmotropie (Knorr), während, wenn die eine Form quantitativ sehr zurücktritt und daher der Analyse entgeht, diese Form als Pseudoform und der ganze Zustand als Pseudomerie (v. Bayer) bezeichnet wird. Die treffendste Bezeichnung, die auch unmittelbar einen Vergleich mit den Verhältnissen der Variabilität der Organismen gestattet, ist die von Schaum gewählte als Gleichgewichtsisomerie. Sehr instruktiv liegen z. B. die Verhältnisse beim Acetessigester, der als allelotropes Gemisch in der

Ketoform $CH_3 \cdot | CO \cdot CH_2 | COOC_2H_5$ und in der sogenannten

Enolform $CH_3 | C=CH | COOC_2H_5$ existiert, deren Varianten ihrerseits

$\quad\quad\quad

Je nach den angewandten Substitutionsverfahren entsteht das eine oder andere Derivat. Das allelotrope Ausgangsmaterial, der Acetessigester selbst, läßt sich mit der Ausgangskultur des zunächst farblos auf Endo-Agar wachsenden Bact. coli mutabile vergleichen; durch Wirkung des Milchzuckers spaltet sich die rote beständige Variante ab, vergleichbar mit einem der beiden eindeutig gefestigten Substitutionsderivate. Daß im lebenden Plasma nicht nur 2, sondern häufig viele Gleichgewichtslagen präformiert sind, das erklärt sich einfach durch seinen komplizierten Bau mit einem Molekulargewicht von mehreren Tausenden; schon das sog. technische Pyrazolon, mit einem Mol.-Gewicht von 174 hat 3 chemisch genau definierte Gleichgewichtslagen. Sehr instruktiv sind schließlich auch die Verhältnisse bei der Rückbildung der Varianten; übereinstimmend haben Beijerinck und Toenniessen festgestellt, daß hierbei stets der zuletzt erworbene Schritt zuerst wieder rückgängig gemacht wird, und das stimmt genau mit der sog. Stufenregel von W. Ostwald, wonach ein chemisches oder physikalisches System, das in mehreren Gleichgewichtszuständen existieren kann, auch wieder Schritt für Schritt aus dem weniger beständigen sog. metastabilen Zustand in zunehmend stabilere Zustände übergeht. Ich glaube nicht zu viel zu sagen — und möchte hiermit mein Referat schließen — daß diese neue Theorie der tautomeren Struktur des lebenden Plasmas berufen ist, die Rätsel der Variabilität restlos aufzuklären.

Referat II. V. Jollos (Berlin-Dahlem).

Variabilität und Vererbung bei Protisten.

Die Betrachtung der Variabilität der Mikroorganismen müßte lückenhaft und einseitig bleiben und würde sich von vornherein einen tieferen Einblick in das Wesen und die Bedeutung der beobachteten Erscheinungen verbauen, wollten wir nicht versuchen, sie auch vom Standpunkte der Vererbungsforschung zu beleuchten. Denn nur, wenn wir das erbliche Verhalten einer Veränderung genauer analysiert haben, können wir sie richtig werten; nur wenn wir die erbliche Bedeutung der bei den Protisten auftretenden Variabilitätsformen kennen gelernt haben, können wir sie mit den bei Pflanzen und Tieren bekannten Abänderungen vergleichen und damit dieses ganze Gebiet in den Rahmen unserer allgemeinen biologischen Anschauungen einordnen.

Die großen Fortschritte der Erblichkeitslehre in den letzten Jahrzehnten, die vor allem an den Namen Gregor Mendels anknüpfen, gründen sich in erster Linie auf der Erkenntnis, daß die Vererbung auf dem Uebergang gesonderter selbständiger und voneinander weitgehend unabhängiger Erbfaktoren (oder „Gene") beruht. Von Generation zu Generation werden die Gene mit den Keimzellen übertragen, unbeeinflußt im allgemeinen von der Beschaffenheit und den Veränderungen des Individuums, dessen Keimzellen sie jeweilig beherbergen. Sie stellen in ihrer Gesamtheit die erbliche Veranlagung eines jeden Organismus dar, seinen „Genotypus", der also relativ konstant bleibt, unabhängig davon, wie die durch äußere Bedingungen natürlich weitgehend beeinflußte individuelle Entwicklung, der „Phänotypus" sich manifestiert. Die Zusammensetzung der Gene kann also mit Sicherheit nicht

an der Beschaffenheit des einzelnen Individuums erkannt, sondern nur aus dem Verhalten seiner Nachkommenschaft erschlossen werden.

Mit dieser Trennung der in jedem Einzelfall wahrnehmbaren Eigenschaften, des Phänotypus, von der erblichen Grundlage, dem Genotypus, hat die Erblichkeitslehre erst die feste Basis gewonnen, die es ihr ermöglichte, hinter der häufig sinnverwirrenden Mannigfaltigkeit der äußeren Erscheinungen, wie sie uns z. B. bei Kreuzungsversuchen entgegentreten, die allgemeineren Gesetzmäßigkeiten der Vererbung aufzuklären. Auf dieser Grundlage aber ist uns auch ohne weiteres eine allgemeine Einteilung der Variabilitätserscheinungen möglich:

Wir müssen unterscheiden zwischen den Veränderungen, die auf Umstimmungen der einzelnen Gene beruhen, also genotypischer Natur sind, und anderen, die nur phänotypischen Charakter besitzen, die Gene dagegen unberührt lassen. Derartige phänotypische Abänderungen bezeichnen wir allgemein als „Modifikationen", Veränderungen der Gene dagegen als „Mutationen".

Es kommt somit bei dem Begriff der Mutation, wie wir ihn hier definierten, nicht darauf an, ob eine Veränderung groß oder klein ist, ob sie sprungweise entstand, ob sie bei vielen oder nur einem einzigen Individuum auftrat, ob sie nützlich oder schädlich, richtungslos oder angepaßt erscheint, im Verlust oder Neuauftreten einer Eigenschaft sich dokumentiert u. dgl. m., sondern es handelt sich einzig und allein darum, daß eine Umstimmung von Genen vorliegt[1]).

In den letzten Jahren ist nun die zunächst rein abstrakte begriffliche Vorstellung von den Genen, vor allem durch die glänzenden Untersuchungen von Morgan und seiner Schule, mit konkreterem Inhalt erfüllt worden. Die Arbeiten der amerikanischen Forscher haben wohl zweifelsfrei dargetan, daß die Gene mit bestimmten charakteristischen Strukturen des Zellkernes, den Chromosomen, aufs engste verknüpft sind. Der Komplex der Gene ist in genau analysierbarer Weise auf die einzelnen Chromosomen bei jeder Spezies verteilt (jedes Chromosom „enthält" ganz bestimmte Gene in ganz bestimmter wechselseitiger Anordnung) und die Verteilung der Erbfaktoren bei Befruchtung und Reduktion beruht eben auf der Verteilung der Chromosomen bei diesen Vorgängen.

Auf Grund dieser Feststellungen können wir die zuvor unterschiedenen Begriffe noch etwas anders und vielleicht noch klarer formulieren: als Mutationen bezeichnen wir nunmehr nur Veränderungen, die auf einer Umstimmung der an die Chromosomen, d. h. also an ganz bestimmte Kernstrukturen geknüpften Elemente beruhen. Die Modifikationen beeinflussen dagegen diese Kernteile in keiner Weise, handelt es sich bei ihnen im allgemeinen doch nur um eine durch verschiedene „Lebenslage" abgeänderte Realisierung an sich unveränderter genotypischer Potenzen. Soweit man sie aber, wie wir sehen werden, überhaupt mit bestimmten morphologischen Elementen in Zusammenhang bringen kann, müssen sie wohl in erster Linie auf Veränderungen des Plasmas zurückgeführt werden.

1) Die hier gegebene Begriffsbestimmung deckt sich — dies sei, um Mißverständnisse zu vermeiden, ausdrücklich betont — keineswegs mit den Vorstellungen und Tatsachen, die de Vries mit dem Namen „Mutation" bei seiner Aufstellung verknüpfte. Auch in der vererbungswissenschaftlichen Literatur wird der Begriff meist weniger präzise gefaßt, als es hier geschah und im Interesse einer wirklichen Klärung, speziell auch auf dem uns vor allem interessierenden Gebiete, unbedingt erforderlich ist.

Neben Mutationen und Modifikationen kennen wir noch eine dritte Gruppe der Variantenbildung, die vor allem im Zusammenhang mit Befruchtungsvorgängen eine wichtige Rolle spielt: die sogenannten „Kombinationen". Auch bei ihnen haben wir es mit genotypischen Veränderungen zu tun, aber im Gegensatz zu den Mutationen nicht mit Umstimmungen einzelner Gene, sondern mit Aenderungen des Genbestandes, wie wir sie bei Kreuzung verschiedener Sippen erhalten und aus den zahllosen Bastardierungsanalysen der letzten 25 Jahre eingehender kennen gelernt haben. Cytologisch betrachtet werden hier also ganze Chromosomen oder Chromosomengruppen mit zum Teil verschiedenen Genen bei der Befruchtung zusammengebracht und dann bei der Reduktionsteilung neu verteilt.

Es mag nun schon in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen werden, daß Veränderungen des Chromosomenbestandes nicht nur bei der Befruchtung, sondern auch im Laufe vegetativer Vermehrung auftreten können. So sind Verdoppelungen des ganzen Chromosomensatzes oder auch nur einzelner Chromosomen bekannt, und umgekehrt können auch einzelne Chromosomen oder Chromosomengruppen bei Störungen der Teilungsvorgänge verloren gehen. Derartige Veränderungen des Chromosomenbestandes führen, wie vor allem die Untersuchungen von Blakeslee, Winkler und F. v. Wettstein in den letzten Jahren gezeigt haben, zu tiefgreifenden Veränderungen der Organismen, die sich in den mannigfachsten morphologischen wie physiologischen Umstimmungen dokumentieren. Auch dies sind natürlich genotypische Veränderungen, die aber nicht auf Umstimmung der Gene selbst beruhen und daher von den Mutationen in strengem Sinne unserer Definition scharf getrennt werden müssen. (Wenn dies auch in der Literatur bisher leider nicht genügend geschieht.) Sind sie doch begrifflich viel eher mit den bei Kreuzungen auftretenden Kombinationen zu vereinigen. Sie zeigen nun — und dies macht sie vor allem für unsere Betrachtungen wichtig — die Tendenz, den vermehrten Chromosomenbestand wieder auf die Normalzahl herabzuregulieren und damit auch in ihrem ganzen Verhalten wieder zur Norm zurückzuschlagen. Es scheint, daß weitaus die meisten, vielleicht sogar fast alle, bisher bei Metazoen und Pflanzen bekannt gewordenen „zurückschlagenden" Mutationen, so vor allem die „Knospenmutationen", eben auf derartigen Veränderungen des Chromosomenbestandes und seiner Umregulierung beruhen, somit überhaupt keine echten Mutationen darstellen[1]).

Nach Festlegung der vererbungstheoretischen Begriffe erhebt sich für uns natürlich die wichtige Frage, wieweit wir mit den aufgestellten Kategorien bei den Protisten, vor allem bei den Bakterien, überhaupt etwas anfangen können. Wir sahen, daß zum Kriterium einer Mutation der Nachweis einer Genveränderung gehört, ein Nachweis, der nur im Zusammenhang mit Befruchtungsvorgängen, mit dem Uebergang von Generation zu Generation zu führen ist. Bei den Bakterien kennen wir aber keinerlei Sexualakte, wir kennen also auch keinerlei Generationen im strengen vererbungstheoretischen Sinne. Darüber können natürlich weder theoretische Auseinandersetzungen noch willkürliche Konstruktionen und Vergleiche, wie etwa die Gleichsetzung einer Plattenfolge mit einer Generationsfolge (Eisenberg) hinwegtäuschen. Und eben-

1) Um eine echte zurückschlagende Mutation dürfte es sich bei der als „bar" („Bandauge") bezeichneten genotypischen Veränderung von Drosophila handeln.

sowenig wie von einer Sexualität wissen wir ja bei den Bakterien irgend etwas von Chromosomen oder analogen Kernstrukturen; ist doch selbst die Frage des Vorhandenseins oder Fehlens überhaupt von Kernen (bezw. von der Auffassung der ganzen Bakterien als Kerne) noch mehr als umstritten. Ist unter solchen Umständen an das Vorhandensein von Genen zu denken, eine Unterscheidung von Genotypus und Phänotypus denn überhaupt möglich und berechtigt? — Bei dieser Sachlage erscheint es begreiflich, daß mancher hier überhaupt resigniert und jedweden Vergleich zwischen den Variabilitätserscheinungen bei den Bakterien und den anderen Organismen aufgibt, oder sogar, wie etwa van Loghem, zu der Ansicht geführt wird, es handele sich bei der Variabilität der Bakterien überhaupt nicht um Vererbungs-, sondern nur um entwicklungsphysiologische Vorgänge. Ein solcher extremer Standpunkt erscheint uns aber keineswegs gerechtfertigt, brauchen wir uns doch nur daran zu erinnern, daß man auch bei der vegetativen Vermehrung von Pflanzen von Variabilitätserscheinungen, Modifikationen und Mutationen sprechen kann und spricht. Die Schwierigkeit liegt ja nicht darin, daß bei den Bakterien genotypische Veränderungen von vornherein nicht möglich oder undenkbar wären, sondern es fehlt uns zunächst nur jedwedes Kriterium für eine vererbungstheoretische Beurteilung der bei ihnen zu beobachtenden Umstimmungen.

Ein Ausweg aus dieser Schwierigkeit scheint unter diesen Umständen nur bei indirektem Vorgehen möglich: Wir müssen zur Analyse und zum Vergleich Organismen heranziehen, die auf der einen Seite die gleichen Vermehrungs- und Variabilitätserscheinungen aufweisen wie die Bakterien, dazu aber auch echte Befruchtungsvorgänge besitzen und somit entsprechend den Metazoen und Pflanzen eine vererbungstheoretische Prüfung und Wertung der vorkommenden Veränderungen ermöglichen. Solche Organismen sind nun in manchen Protozoen, Pilzen und Hefen gegeben. Etwas genauere Untersuchungen liegen aber auf unserem Gebiete fast nur bei Protozoen (Infusorien) vor, von denen wir denn auch bei unserer weiteren Betrachtung ausgehen müssen.

Daß auch bei Protozoen ähnliche Umstimmungen wie bei den Bakterien vorkommen, ist Ihnen allen zum mindesten für eine auch medizinisch besonders wichtige Protozoengruppe, die Trypanosomen, bekannt. Sind doch bei den Trypanosomen vor allem durch die bekannten Arbeiten Ehrlichs und seiner Schüler, aber auch mancher anderen Forscher, Veränderungen der verschiedensten Art festgestellt und experimentell erzeugt worden. Es sei nur an die Entstehung giftfester oder serumfester Stämme erinnert, Umstimmungen, die sich ohne weiteres mit ähnlichen Veränderungen der Bakterien vergleichen lassen und ja auch stets mit diesen verglichen werden. Die Trypanosomen erfüllen somit aufs beste das eine der für einen Vergleich erforderlichen Postulate, leider aber nicht das andere, das erst den Anschluß an die Vererbungserscheinungen bei Metazoen und Pflanzen ermöglichen kann: Denn nach wie vor ist das Vorhandensein eines Befruchtungsaktes im Leben dieser Flagellaten zum mindesten recht zweifelhaft, und selbst wenn es sich bestätigen sollte, sind wir vorerst nicht imstande, experimentell so damit zu arbeiten, wie es für die uns hier beschäftigenden Fragen unbedingt erforderlich wäre.

Man mußte sich daher anderen Protozoengruppen zuwenden, und in

diesem Zusammenhange erschien die Heranziehung der Infusorien am geeignetsten.

Bei den Infusorien haben wir eine vegetative Vermehrung durch einfache Zweiteilung, ganz entsprechend der Vermehrung der Bakterien und Trypanosomen. Wir haben weiterhin echte Befruchtung, die sogenannte Konjugation, die sich durch äußere Bedingungen mehr oder weniger leicht auslösen läßt, und bei der es zu Reduktionsteilungen und Kernvereinigungen kommt, die ohne weiteres mit den entsprechenden Erscheinungen bei der Keimzellenbildung und Verschmelzung der Metazoen und Pflanzen in Parallele zu setzen sind. Weiterhin bieten uns viele Infusorien, so auch die am meisten verwandten Paramäcien, infolge ihrer Größe die Möglichkeit, einzelne Individuen nach Bedarf leicht zu isolieren und getrennt zu beobachten und weiter zu züchten. Wir können daher ohne Mühe mit einem sicher einheitlichen Materiale arbeiten, mit Zuchten von Individuallinien, wie ich sie ursprünglich nannte, mit „Klonen", nach der inzwischen üblich gewordenen Bezeichnung. Und endlich ergaben planmäßige Experimente und Beobachtungen, daß bei den Infusorien auch Umstimmungen aller Art auftreten oder ausgelöst werden können, die den bei Trypanosomen und weiterhin bei Bakterien beobachteten Veränderungen weitgehend entsprechen[1]).

Es lassen sich Klone von Paramäcium gegen arsenige Säure festigen, man kann Serumfestigkeit hervorrufen, Anpassung an höhere Temperaturen erzielen, Umstimmungen der Teilungsrate, der Durchschnittsgröße u. dgl. m.

Betrachten wir nun das Verhalten derartiger Veränderungen bei rein vegetativer Vermehrung, so zeigt es sich, daß der größte Teil der beobachteten Umstimmungen nach Ausschaltung der die Veränderung hervorrufenden Faktoren sehr bald wieder verloren geht. Wir haben es hier also mit Veränderungen zu tun, die zweifellos nicht auf einer Umstimmung von Genen beruhen, sondern nur gewöhnliche Modifikationen darstellen. Weiterhin finden sich aber bei den Infusorien Umstimmungen aller Art, die auch nach Zurückversetzung in „normale" Kulturbedingungen nicht sogleich verschwinden. Sie bleiben manchmal nur über wenige Teilungsschritte und eine entsprechend kurze Zeitspanne erhalten. Wir sprechen dann von „Nachwirkungserscheinungen". In anderen Fällen dagegen, so besonders bei manchen gegen arsenige Säure gefestigten Stämmen, aber auch bei verschiedenen Anpassungen an erhöhte Temperatur oder Aenderungen der Größe und der Teilungsfrequenz, blieb die experimentell erzielte Umstimmung in arsenfreiem Medium während vieler Monate und über hunderte von Teilungsschritten hinweg erhalten. Schließlich wird aber auch sie allmählich wieder zurückgebildet, so daß wir schon im Laufe der vegetativen Vermehrung, wenn auch erst nach sehr langer Zeit, einen vollständigen Rückschlag zum Verhalten der Ausgangszucht feststellen können.

Prüfen wir dagegen das Verhalten derartiger bei vegetativer Vermehrung nur allmählich und erst nach vielen Monaten zurückschlagenden Umstimmungen nach Eintritt einer Konjugation, so sehen wir etwas

---

1) V. Jollos, Experimentelle Protistenstudien. I. Untersuchungen über Variabilität und Vererbung bei Infusorien. Arch. f. Protistenk. Bd. 43 (auch als Buchausgabe, Jena, G. Fischer, 1921).

völlig anderes: Nach einer Konjugation, die uns ja vor allem als Prüfstein für die erbliche Bewertung der einzelnen Abänderungen zu dienen hat, sind diese Veränderungen gewöhnlich mit einem Schlage völlig verschwunden. Und wenn sie sich in gewissen extremen Fällen auch über die erste Konjugation hinweg noch etwas erhalten konnten, so werden sie stets durch eine Folge von mehreren Sexualakten restlos beseitigt. Stets erhalten wir wieder Stämme, die sich in keiner Weise von den unbeeinflußten Ausgangszuchten unterscheiden.

Damit ist aber der Charakter dieser Umstimmungen eindeutig klargestellt: Es kann sich auch bei ihnen nicht um eine Veränderung von Genen, um eine Mutation handeln, da sie ja beim Sexualakt, beim Uebergang von einer Generation (im vererbungstheoretischen Sinne) auf die andere wieder völlig verschwinden. Die erbliche Grundlage der Infusorien kann somit nicht umgestimmt sein, sondern wir haben es hier mit einer ihrem Körper gewissermaßen nur äußerlich aufgezwungenen Veränderung zu tun, die die genotypischen Potenzen lange Zeit nicht zur Geltung kommen läßt, schließlich aber doch von diesen überwunden wird, langsam und allmählich im Laufe der vegetativen Vermehrung, etwas schneller bei schroffem Wechsel der Ernährungs-, Temperatur- und sonstigen Kulturbedingungen, sehr rasch, gewöhnlich mit einem Schlage, im Zusammenhang mit den die Befruchtungsvorgänge begleitenden tiefgreifenden Umwälzungen im Körper der Infusorien.

Da es sich bei den hier geschilderten Veränderungen somit nicht um Umstimmungen der Gene handelt, können wir sie natürlich nicht zu den Mutationen, sondern nur zur großen Gruppe der Modifikationen rechnen, bezeichnen sie aber eben wegen ihres charakteristischen langen Bestehenbleibens als „Dauermodifikationen". Damit ist nicht nur eine allgemeine Wertung solcher Umstimmungen gegeben, sondern auch zum Ausdruck gebracht daß sie sich von den gewöhnlichen Modifikationen nicht scharf trennen lassen, sondern mit ihnen durch stufenweise Uebergänge (Nachwirkungserscheinungen verschiedener Dauer und Intensität) verbunden sind.

Die besonderen bei den Infusorien vorliegenden morphologisch-entwicklungsgeschichtlichen Verhältnisse gestatteten es aber auch, die aus dem erblichen Verhalten solcher Umstimmungen gezogenen Schlüsse noch auf ganz anderem Wege zu bekräftigen:

Bei den Paramäcien unterscheiden wir zweierlei Kerne, einen sog. Makronucleus und einen Mikronucleus. Bei der vegetativen Vermehrung teilen sich beide, bei der Konjugation spielt dagegen nur der Mikronucleus eine wichtige Rolle. Er ist der eigentlich generative Kern, der bei der Konjugation die charakteristischen Teilungs- und Verschmelzungserscheinungen zeigt und kontinuierlich erhalten bleibt, während der Makronucleus im Laufe der Befruchtungsprozesse zugrunde geht und später vom Mikronucleus aus neu gebildet wird. Und ebenso wie bei der Konjugation wird auch bei den bei Paramäcien außerdem noch bekannten parthenogenetischen Prozessen der Makronucleus erneuert, während der Mikronucleus sich zwar mehrmals teilt, aber ohne Kernkopulation erhalten bleibt. Wir haben somit, summarisch betrachtet, bei den Paramäcien drei verschiedene Komponenten: Plasma, Makronucleus und Mikronucleus, die sich bei den Teilungs- und Befruchtungsvorgängen in ganz bestimmter und verschiedener Weise verhalten und teilweise periodisch eliminiert werden. Damit ist uns

aber die Möglichkeit geboten, einen etwaigen Zusammenhang von Dauermodifikationen nur mit einer dieser drei Komponenten aus ihrem Verhalten bei vegetativer Vermehrung, Parthenogenesis und Konjugation zu erschließen. Denn es ist ohne weiteres klar, daß eine auf Makronucleusveränderungen beruhende Umstimmung eben wegen der periodischen Entfernung und Neubildung des Makronucleus sich in ihrem „Erbgange" ganz anders verhalten muß als eine durch plasmatische Umstimmung oder eine Umbildung des Mikronucleus hervorgerufene Variante. Und tatsächlich ließ sich denn auch zeigen, daß manche der beobachteten Dauermodifikationen auf Veränderungen des Makronucleus beruhen müssen, andere dagegen in erster Linie plasmatischer Natur sind. Da das generative Material der Infusorien aber, wie wir sahen, an den Mikronucleus geknüpft ist, so ist damit auch auf Grund der Berücksichtigung der cytologischen Verhältnisse gezeigt, daß es sich bei den Dauermodifikationen eben nicht um Veränderungen der Gene, sondern um Umstimmungen des Plasmas oder besonderer Strukturelemente (Makronucleus) handelt.

Neben den bisher von uns betrachteten Modifikationen und Dauermodifikationen kennen wir aber bei den Infusorien auch noch Veränderungen anderer Art: In einigen wenigen Fällen konnten nämlich Umstimmungen innerhalb eines Klones festgestellt werden, die sich nicht nur bei vegetativer Vermehrung dauernd erhielten, sondern die auch alle Konjugationen und Parthenogenesen (in noch so häufiger Folge!) unverändert überdauerten. Hier haben wir es also mit Umstimmungen zu tun, die wirklich über zahlreiche Generationen hinweg, also wohl dauernd, erhalten bleiben, und es scheint daher berechtigt, hier, aber auch nur hier, von echten genotypischen Veränderungen, von Mutationen, zu sprechen. Derartige genotypische Umstimmungen traten aber nicht nur relativ selten auf, sondern sie konnten bisher auch nur unter der Einwirkung abgeänderter äußerer Bedingungen während eines ganz bestimmten, mit den am generativen Kern (Mikronucleus) ablaufenden Befruchtungsvorgängen in Zusammenhang stehenden Entwicklungsstadiums hervorgerufen werden. Es ist zuzugeben, daß der letzte, sicherste Beweis der erfolgten Genveränderung, die Feststellung einer alternativen Vererbung (eines „Mendelns") noch aussteht, da die technischen Vorbedingungen für derartige Vererbungsversuche bisher noch nicht gegeben sind. Aber auch ohne diesen sichersten Beweis dürfte schon das dauernde Erhaltenbleiben dieser Veränderungen über viele echte Generationen hinweg, und dann auch die ganze Art ihrer Entstehung hinreichend für ihre genotypische, ihre Mutationsnatur sprechen.

Die Variabilitäts- und Vererbungsuntersuchungen an Infusorien haben uns somit gezeigt, daß bei dieser Protistengruppe ganz verschiedene, verschiedenwertige, Veränderungen vorkommen: Gewöhnliche Modifikationen, die mit dem Fortfall der sie hervorrufenden Außenbedingungen rasch wieder schwinden, Dauermodifikationen, Veränderungen, die auf einer Umstimmung des Plasmas oder bestimmter gesonderter Organelle (Makronucleus) beruhen und bei vegetativer Vermehrung erst nach längerer Zeit, mitunter erst nach vielen Monaten oder Jahren allmählich zurückgebildet, durch Konjugationen dagegen sogleich restlos beseitigt werden. Und schließlich echte Mutationen, genotypische, also auf Mikronucleus-(Chromosomen)veränderungen beruhende, Umstimmungen, die sowohl bei noch so langer vegetativer Vermehrung,

wie auch über alle Konjugationen und Parthenogenesen hinweg dauernd erhalten bleiben.

Dauermodifikationen sind somit in der Regel bei lange — unter Umständen Jahre hindurch! — fortgesetzter Beobachtung schon bei vegetativer Vermehrung an ihrem allmählichen Abklingen im Laufe der Zeit zu erkennen, zumal wenn man die Rückbildung durch entsprechend gewählte Außenbedingungen unterstützt. Hartnäckigere Umstimmungen dieser Art weichen erst bei Befruchtungsvorgängen. Und es sind schließlich auch extremste Fälle denkbar und gelegentlich realisiert, bei denen eine Dauermodifikation überhaupt nicht zurückschlagen kann. So wenn z. B. bei grünen Flagellaten (Euglenen) durch fortgesetzte Zucht unter Lichtausschluß die sich selbständig teilenden Chromatophoren zurückgebildet werden und schließlich bei einem Teil der Individuen ganz fehlen. Solange auch nur ein kleiner Rest des Chromatophorenapparates im Körper noch zurückgeblieben ist, kommt es bei erneuter Lichteinwirkung bei seinen Abkömmlingen nach kürzerer oder längerer Zeit zu einem Wiederergrünen, d. h. zu einer Rückbildung der Dauermodifikation. Ist aber einmal bei der Teilung ein völlig chromatophoren(Plastiden)loses Flagellat entstanden, so kann dieses selbst und alle seine Nachkommen auch bei noch so langer Weiterzucht unter normalen Bedingungen nicht wieder einen Chromatophorenapparat bilden, da dieser niemals aus einem anderen Teile des Körpers hervorgeht. In ähnlicher Weise ist bei manchen Chrysomonadinen beobachtet worden, daß durch Unregelmäßigkeiten der Teilung gelegentlich Individuen entstehen, die gleichfalls kein Chromatophor mitbekommen und dann natürlich dauernd farblose Nachkommen erzeugen. In beiden Beispielen handelt es sich somit um Abänderungen, die wohl überhaupt nicht wieder zur Norm zurückschlagen können, die aber ihrem Wesen und ihrer Bedingtheit nach mit den Genen natürlich nichts zu tun haben, somit trotz ihrer Konstanz nicht als Mutationen, sondern eben nur als extreme Dauermodifikationen gewertet werden müssen. Bei einer etwaigen Kreuzung würde sich dies natürlich an dem „Nicht-Mendeln" derartiger Veränderungen dokumentieren.

Damit erledigt sich wohl auch der gelegentlich erhobene Einwand, daß die Unterscheidung von Dauermodifikationen und Mutationen nur eine künstliche wäre, da ebenso wie die Dauermodifikationen fließend durch mehr oder weniger hartnäckige „Nachwirkungserscheinungen" mit den gewöhnlichen Modifikationen verbunden sind, so auch bei längerer Einwirkungsdauer oder intensiverer Wirkung der modifizierenden Einflüsse die Dauermodifikationen schließlich zu Mutationen werden könnten. Eine derartige Auffassung konnte wohl auch nur auf Grund der meist noch herrschenden begrifflichen Unklarheit und unscharfen Unterscheidungen gebildet werden, da sie eben die prinzipielle, theoretische wie tatsächliche, d. h. zellulär bedingte, Trennung von Modifikationen und Mutationen völlig verkennt: Auch die hartnäckigste, die irreversible Dauermodifikation berührt die Gene überhaupt nicht. Wie sollte auch z. B. eine Veränderung nur des Makronucleus, des Chromatophors oder des Plasma durch eine Steigerung ihres Grades zu einer Veränderung der generativen Kernkomponente werden?

Die Erfahrungen mit den Dauermodifikationen geben uns schließlich auch eine Antwort auf die zuvor gestreifte Frage, ob wir denn

überhaupt berechtigt wären, bei den Protisten zwischen Phänotypus und Genotypus zu unterscheiden, auch bei ihnen von einer genotypischen Grundlage zu sprechen: Wenn wir sehen, daß auch die hartnäckigsten und tiefgreifendsten Veränderungen der Paramäcien langsam und allmählich bei vegetativer Vermehrung, mit einem Schlage oder doch sehr rasch nach einer Befruchtung verschwinden und der Reaktionsnorm der Ausgangszucht Platz machen, so sind wir damit wohl mit Notwendigkeit zu der Anschauung gezwungen, daß eben auch bei den Protisten ungeachtet aller dem Körper aufgedrängten Umstimmungen ein unverändertes, relativ konstant bleibendes Etwas vorhanden sein muß, eben ihre genotypische Grundlage, die sich schließlich immer wieder durchsetzt und dem Organismus ihr Wesen aufprägt.

Auf Grund der bei Infusorien erzielten Feststellungen können wir nunmehr leicht den analogen Variabilitätserscheinungen bei anderen Protozoen, bei denen uns der Prüfstein der Befruchtungsvorgänge fehlt, einigermaßen nähertreten. Von den über freilebende Protozoen vorliegenden Beobachtungen seien nur die Dauermodifikationen der Schalenbildung mancher Thekamöben, vor allem der Gattung Arcella, erwähnt. Auch hier bleibt die Veränderung nach Fortfall der die Umstimmung auslösenden äußeren Bedingungen häufig viele Monate erhalten. Stets aber sehen wir schließlich bei rein vegetativer Vermehrung — Sexualakte sind bei dieser Gruppe bisher nicht sicher festgestellt — einen Rückschlag zur Normalform. Von besonderem Interesse ist aber hierbei die Tatsache, daß in solchen Zuchten zwar völlig normale Individuen entstehen (gewissermaßen ständig abgespalten werden), daß aber daneben noch lange Zeit auch abgeänderte Formen erhalten bleiben und sich auch bei der Teilung immer wieder bilden — ein Verhalten, dem wir auch bei manchen Veränderungen bei Bakterien noch begegnen werden, das aber bei den Arcellen im Prinzip aufgeklärt werden konnte. Beobachtungen von Einzelindividuen mit wesentlich veränderter Schalenbildung zeigten nämlich, daß die nach ihrer Ausbildung bei dem Individuum selbst irreversible phänotypische Veränderung als solche einen Einfluß auf die Beschaffenheit der Teilprodukte ausüben kann, auch wenn die ihr primär zugrunde gelegene Umstimmung des Plasmas bereits wieder geschwunden ist. Arcellen mit abnormer Schalenform bilden bei ihrer unmittelbaren Teilung in der Regel auch dann noch lange Zeit immer wieder abnorme Abkömmlinge, wenn gelegentlich dazwischen entstandene normale Formen bereits eine normale Nachkommenschaft erzeugen. Und ebenso bildet bei ausnahmsweisem Verlust der abnorm gestalteten Schale eine derartige Arcella, die sonst nur Tochterindividuen mit abgeänderter Schalenkonstruktion bei der Teilung entstehen ließ, völlig normale Nachkommen. Es sind somit bei diesem Fortbestehen der Abnormität bei gleichzeitigem ständigen Abspalten normaler Formen wahrscheinlich physikalisch-chemische (Oberflächen-) Bedingungen im Spiele, die mit der Vererbung, den erblichen Potenzen, überhaupt nichts zu tun haben, aber das phänotypische Bild wesentlich komplizieren können.

Die Untersuchungen derartiger Dauermodifikationen der Schalenbildung der Arcellen zeigen uns aber schließlich auch, daß es sich bei dem Abklingen solcher Veränderungen nicht etwa um unbewußte Selektion ständig entstehender erblicher Varianten und den Unter-

gang der an ein bestimmtes Kulturmedium weniger angepaßten Formen handelt, wie dies gelegentlich für die Infusorien behauptet worden war (Erdmann). Denn hier können wir ja die gesamte Nachkommenschaft veränderter Einzelindividuen ständig prüfen, leicht auseinanderhalten und unmittelbar beobachten, daß tatsächlich nicht nur Selektions-, sondern allmähliche Rückbildungsprozesse vorliegen, die auch ohne jede planmäßige oder unbewußte Zuchtwahl schließlich zur Stammform zurückführen. —

Der Vergleich der gift- und serumfesten Trypanosomenstämme mit der entsprechenden Festigung der Paramaecien liegt wohl ohne weiteres auf der Hand. Auch bei den Trypanosomen lassen sich ja Festigungen gegen ein Vielfaches der ursprünglich tödlichen Dosis verhältnismäßig leicht erreichen, und diese Festigung bleibt auch nach Fortfall der Einwirkung des Giftes wochen- und monate-, unter Umständen wohl auch jahrelang erhalten. Ueber lang oder kurz sehen wir aber bei derartigen Trypanosomenstämmen ein Abklingen der zunächst vorhandenen Festigkeit, ein Abklingen, das allmählich immer weiter fortschreitet und schließlich zu den normalen Ausgangsstämmen zurückführt. Besonders klar zeigt sich dies Verhalten z. B. bei den ausgedehnten Versuchsserien von Braun und Teichmann. Und ebenso wie die Dauermodifikationen der Infusorien durch schroffen Wechsel der äußeren Bedingungen schneller zum Schwinden gebracht werden, sehen wir bei gefestigten Trypanosomen (nach den bekannten Versuchen von Gonder) nach Passage durch den Ueberträger sogleich einen vollständigen Rückschlag zur Stammform[1]).

All' diese experimentellen Veränderungen der Trypanosomen stellen somit keine „Mutationen" dar, wie Ehrlich und manche anderen Forscher annahmen, sondern typische Dauermodifikationen.

Aehnliche Giftfestigungen wie bei Infusorien und Trypanosomen sind auch bei Hefen erzielt worden. So konnte Effront einen Hefestamm an ein Vielfaches der ursprünglich tödlichen Dosis von FNH_4 gewöhnen, und die erzielte Festigung blieb auch bei F-freier Zucht mehrere Monate erhalten, um dann, ganz wie die Arsenfestigkeit der Paramäcien, allmählich wieder abzuklingen, bis das normale Verhalten des Ausgangsstammes erreicht war und dann dauernd beibehalten wurde. Auch hier haben wir es also ebenso wie bei den Trypanosomen zweifellos mit Dauermodifikationen zu tun. —

Wenden wir uns schließlich der für uns in diesem Rahmen wichtigsten Mikroorganismengruppe, den Bakterien, zu, so können wir die hier bisher beobachteten Veränderungen mit Hilfe des bei den Protozoen gewonnenen Rüstzeuges ziemlich summarisch behandeln und

---

1) In manchen Fällen mag allerdings der Rückschlag (wie dies Ritz gezeigt hat) nicht oder doch nicht ausschließlich auf einer Rückbildung der experimentell erzielten Festigung beruhen, sondern auf einer Art Selektionswirkung, indem nämlich die gift- oder serumfesten Stämme Mischzuchten darstellten, die neben gefestigten Individuen auch noch empfindlichere Trypanosomen in geringer Zahl enthielten, Formen, die unter normalen Bedingungen allmählich die gefestigten überwucherten. Ganz allgemein dürfte aber eine solche selektionistische Erklärung nach den vielfachen, von den verschiedensten Forschern und unter den verschiedensten Bedingungen beobachteten Rückschlägen kaum zutreffen. Im übrigen werden sich diese Verhältnisse ja verhältnismäßig leicht durch experimentelle Untersuchungen an aus einzelnen Trypanosomen gewonnenen Stämmen einwandfrei klären lassen.

werten[1]). Aus den Darlegungen des ersten Referats haben Sie ersehen, daß die Variabilität der Bakterien erst relativ spät größere Beachtung gefunden hat. Seitdem aber im Jahre 1907 Neißer und Massini auf Grund ihrer bekannten Untersuchungen an dem Bakterium coli mutabile die Bezeichnung „Mutation" in die bakteriologische Literatur eingeführt haben, ist eine ständig wachsende Hochflut von Arbeiten über (zum großen Teil als „Mutationen" bezeichnete) Veränderungen bei Bakterien erschienen; eine Hochflut, die den auf diesem Gebiete weniger Vertrauten leicht zu der Annahme verführen könnte, daß jetzt bei den Bakterien alle Formen und Artgrenzen ins Wanken geraten wären. Eine kritische Sichtung reduziert allerdings das vorliegende Beobachtungsmaterial ganz erheblich, da sie sehr viele Feststellungen als für eine vererbungstheoretische Behandlung völlig unzureichend ausschaltet: Ausscheiden müssen wir zunächst natürlich von vornherein alle die Fälle, in denen keine einwandsfrei einheitliche Ausgangskultur vorlag, bei denen also die Möglichkeit nicht auszuschließen ist, daß nur eine Herauszüchtung bestimmter von Anfang an in sehr geringer Zahl vorhandener und daher nicht festgestellter Formen aus einem Mischmaterial erfolgte. Denn für die vererbungstheoretische Behandlung ist eben ein sicher einheitliches, d. h. aus einem einzigen Keime, sei es durch Isolierung eines solchen, sei es durch andere das gleiche Ergebnis garantierende Zuchtmethoden gewonnenes Ausgangsmaterial (Klonzuchten) unbedingte Voraussetzung. Weiterhin muß aber darauf hingewiesen werden, daß sehr viele der die Variabilität der Bakterien behandelnden Untersuchungen daran kranken, daß die Konstanz der äußeren Bedingungen keineswegs immer garantiert war. (Verschiedenheiten des Agar selbst, der H-Ionen-Konzentration u. dgl. m.), vor allem aber auch daran, daß die Objekte in biologischer Hinsicht meist noch viel zu wenig bekannt sind. Wir dürfen nicht vergessen, daß bei den weitaus meisten Bakterien ja nur einige wenige Charaktere, vor allem solche von medizinischer Wichtichkeit (toxisches und serologisches Verhalten), dann Wuchsformen, kulturelles Verhalten, Gärungsvermögen, mitunter auch Kapsel- oder Farbstoffbildung genauer geprüft und bei den Untersuchungen berücksichtigt wurden. Wir haben hier somit bisher nur äußerst wenige charakteristische Reaktionen an der Hand und müssen daher damit rechnen, daß so manche eben nur auf Grund der Uebereinstimmung in diesen wenigen Charakteren für einheitlich gehaltene Kultur bereits verschiedenartige Keime enthält, deren Unterschiede uns aber erst bei Heranziehung neuer Reaktionsmöglichkeiten sichtbar entgegentreten, so bei Zucht unter abweichenden Bedingungen, unter besonderen chemischen Einwirkungen u. dgl. m. Nur in den seltensten Fällen ist endlich die „normale" Variationsbreite für eine Bakterienart einigermaßen klargestellt.

Auf diese Lückenhaftigkeit unserer Kenntnisse ist nur selten von bakteriologischer Seite hingewiesen worden, so z. B. in einer aus dem Morgenrothschen Laboratorium hervorgegangenen Arbeit von

1) Etwas eingehender ist dieses Gebiet in meiner S. 26 erwähnten Schrift, sowie früher (1914) in einer in der Zeitschr. f. indukt. Abstammungs- und Vererbungslehre, Bd. 12, erschienenen Uebersicht behandelt. (An beiden Stellen auch Literaturhinweise.) Auf bakteriologischer Seite ist, soweit ich sehe, nur von Reichenbach von Anfang an ein ähnlicher kritischer Standpunkt gegenüber den „Bakterienmutationen" vertreten worden.

Levi. Wie sehr aber, um nur den letzten Punkt herauszuheben ,die Berücksichtigung der Variationsbreite bei der Behandlung der uns hier beschäftigenden Fragen von Wichtigkeit ist, zeigt etwa die Angabe von Bail, der gegenüber den Mutationsfeststellungen anderer Untersucher bei Choleravibrionen darauf hinweist, daß „die Fähigkeit unter Umständen, von denen das Alter der Zuchten am meisten wirksam zu sein scheint, andere Wuchsformen, aber wesentlich immer die gleichen, anzunehmen, gewissermaßen in den Artbegriff des Choleravibrio hineinfällt; es ist eine Eigenschaft desselben, wie jede andere auch".

Wenn wir aber auch alle diese Unzulänglichkeiten und Schwierigkeiten berücksichtigen, so bleiben doch nicht wenig Beobachtungen übrig, in denen bei Bakterien Veränderungen auch innerhalb eines Klones nachgewiesen werden konnten: Umstimmungen des toxischen und serologischen Verhaltens, der Wuchsform, der Kapsel- oder Farbstoffbildung, des Gärungsvermögens, kurz so ziemlich aller uns zugänglichen Charaktere. Solche Veränderungen, die vor allem unter obnormen Kulturbedingungen, besonders bei Anhäufung von Stoffwechselprodukten oder unter der Einwirkung verschiedener Gifte auftreten, gehen in einem Teil der Fälle bei normaler Weiterzucht sehr rasch wieder verloren und sind damit ohne weiteres als gewöhnliche Modifikationen zu erkennen.

In anderen Fällen dagegen bleibt die erzielte Umstimmung lange Zeit, über viele Kultur-, in manchen Fällen auch Tierpassagen ziemlich unverändert bestehen. Und gerade derartige Beobachtungen waren es ja, die zu der Bezeichnung solcher Veränderungen als Mutationen Veranlassung gegeben haben. Nach unserer zuvor auseinandergesetzten Definition der Begriffe ist eine solche Bezeichnung natürlich unter keinen Umständen aufrecht zu erhalten. Denn mag eine Veränderung bei Bakterien auch noch so lange bestehen bleiben, wir können sie niemals mit Sicherheit als genotypische, als auf der Veränderung echter Gene beruhend, nachweisen, da uns ja hier das allein maßgebende Kriterium ihres Verhaltens beim Sexualakt völlig fehlt und ebenso die Möglichkeit des Nachweises ihrer Verknüpfung mit Kernstrukturen. Es ist somit ein von vornherein aussichtsloses Unternehmen, aus der Beschaffenheit der einen oder anderen Abänderung, aus ihrem plötzlichen Auftreten, ihrem partiellen Schwinden oder Wiederanwachsen auf ihren Charakter als Mutation sichere Schlüsse ziehen zu wollen, wie dies z. B. Toenniessen versucht hat. Andererseits zeigt uns aber gerade ein Vergleich des Verhaltens der meisten derartigen Veränderungen von Bakterien mit dem Verhalten der Dauermodifikationen der Infusorien bei vegetativer Vermehrung, daß die meisten als Mutationen angesprochenen Umstimmungen von Bakterien nichts anderes darstellen als Dauermodifikationen. Denn bei genügend langer Beobachtung sehen wir fast regelmäßig, daß alle diese Veränderungen wieder zurückschlagen, so daß man stets wieder die normale Ausgangsform zurückerhält.

Wir sehen dies bei den abweichenden Wuchsformen von Choleravibrionen, bei der Umstimmung des Gärungsvermögens bei Bacterium coli, bei Veränderungen der Virulenz von Cholera, Pest oder Diphtherie, bei der Kapselbildung der Milzbrandbazillen, der Farbstoffbildung des Bacillus prodigiosus, kurz bei allen Formen der Veränderung, die in den beiden letzten Jahrzehnten als „Mutationen" von den verschiedensten Untersuchern geschildert worden sind. Ja, gerade auf diesem

Gebiete besonders erfolgreiche Beobachter wie Baerthlein oder Beijerinck haben sogar die Ansicht ausgesprochen, daß sämtliche derartige Veränderungen von Bakterien stets wieder zurückschlagen. Beijerinck betrachtet solche Rückschläge als erneute Mutationen, „Rückmutationen", eine Auffassung, die uns natürlich in keiner Weise gerechtfertigt erscheint. Denn nicht nur kann in all' diesen Fällen von dem Nachweis einer genotypischen Umstimmung nicht die Rede sein, da ein solcher Nachweis bei völlig asexuellen Formen eben überhaupt nicht zu erbringen ist, sondern es widerspricht auch gerade das regelmäßige Vorkommen solcher Rückschläge durchaus dem konstanten Verhalten sämtlicher uns bekannten echten Mutationen, bei den Infusorien sowohl wie bei Pflanzen und Tieren. Denn nachdem wir von den eingangs erwähnten auf einer Veränderung nicht der Gene, sondern des Chromosomenbestandes beruhenden genotypischen Umstimmungen absehen können, die mit den echten Mutationen so häufig verwechselt oder zusammengeworfen werden, so müssen wir feststellen, daß der Rückschlag einer Mutation, falls ein solcher bisher überhaupt einwandsfrei nachgewiesen werden konnte, sicherlich zu den allergrößten Seltenheiten gehört. Und gerade die Regelmäßigkeit der Rückkehr zum Verhalten der Ausgangsform, wie sie uns die abgeänderten Bakterienstämme in Uebereinstimmung mit den Dauermodifikationen der Infusorien fast immer zeigen, ist für uns wohl das beste Kriterium dafür, daß wir es auch hier mit einer diesen durchaus entsprechenden Art der Veränderung zu tun haben.

Gegenüber dem Verhalten der Dauermodifikationen der Paramäcien besteht bei manchen derartigen Bakterienveränderungen, so z. B. bei der Umstimmung der Farbstoffbildung des B. prodigiosus, nur insofern ein gewisser Unterschied, als in abgeänderten Prodigiosus-Zuchten nach einiger Zeit wohl ständig normale Formen „abspalten", daneben aber auch die abgeänderte Form in den Kulturen zum mindesten noch sehr lange bestehen bleibt. Auch bei einem serumgefestigten Typhusstamm konnten Braun und Feiler zeigen, daß die Festigung verschieden schnell, bei einem Teil der gefestigten Typhusbazillen schon nach kürzerer Zeit, bei anderen dagegen erst nach vielen Passagen völlig verschwand. Wir haben hier also eine gewisse Parallele zu dem Verhalten der Dauermodifikationen der Schalenbildung bei Arcellen, bei der sich aber dieses eigenartige Verhalten aus dem Hineinspielen bestimmter physikalisch-chemischer Faktoren prinzipiell erklären ließ. Aehnliche störende Faktoren sind vielleicht auch bei diesen bakteriellen Veränderungen mit im Spiele. Vor allem kann es sich dabei um noch nicht analysierte Einwirkungen des Kulturmediums handeln, konnten doch Braun und Pfeiler bei ihrem eben erwähnten Typhusstamm nachweisen, daß die bei Kultur auf festem Nährboden rasch verloren gehende Serumfestigung bei Weiterzucht in Bouillon wesentlich längere Zeit erhalten blieb. Aber gerade diese Schwankungen in der zeitlichen Folge und dem Grade der Rückbildung und die Abhängigkeit der Rückbildungsprozesse von äußeren Faktoren, ihre Beschleunigung durch schroffen Wechsel der Zuchtbedingungen (Tierpassagen, Einwirkungen von Malachitgrün oder anderen Giften), wie sie uns die verschiedensten bei Bakterien beobachteten langdauernden Veränderungen immer wieder zeigen, bilden ebenso viele Uebereinstimmungen mit dem Verhalten der Dauermodifikationen der Infusorien.

Unsere Betrachtung der Variabilität der Bakterien führt uns somit

zu dem Ergebnis, daß auch bei ihnen die meisten der beobachteten langdauernden Veränderungen, die fälschlich als Mutationen bezeichnet wurden, zur Ausgangsform zurückschlagen und sich dadurch als Dauermodifikationen dokumentieren. Daneben gibt es aber doch vereinzelte Umstimmungen, deren Rückschlag bisher auch bei noch so langer Beobachtungsdauer unter den verschiedensten Versuchsbedingungen nicht nachgewiesen werden konnte. Und Aehnliches gilt z. B. auch für manche Umstimmungen von Hefen, wie wir sie vor allem durch die schönen Untersuchungen von Hansen kennen gelernt haben, und Pilzen (E. Schiemann). Hier können wir nicht entscheiden, ob eine wirklich dauernde, prinzipiell nicht umkehrbare Veränderung vorliegt, und in welcher Weise sie dann bedingt ist (ob durch Verlust sich selbständig vermehrender nicht ersetzbarer Organellen, wie im Falle der chromatophorenlosen Euglenen und Chrysomonadinen, oder etwa durch eine wirkliche Genveränderung), da uns ja das ausschlaggebende Kriterium des Verhaltens nach einer Befruchtung hier bisher nicht zur Verfügung steht. Bei der prinzipiellen Unmöglichkeit einer sicheren Wertung derartiger Varianten werden wir sie am besten nach dem Vorschläge von E. Lehmann mit dem indifferenten und unser Nicht-Wissen nicht verschleiernden Namen „Klonumwandlungen" bezeichnen. Diese Bezeichnung ist natürlich in gewisser Hinsicht nur eine provisorische. Denn sobald eine solche Umstimmung doch noch zur Stammform zurückschlägt, erweist sie sich damit eben als Dauermodifikation. Unter allen Umständen aber muß der für Bakterien wie für alle Organismen mit fehlender oder noch unbekannter Sexualität überhaupt nicht anwendbare Begriff „Mutation" aus der bakteriologischen Literatur, in der er so viel Verwirrung angerichtet hat, völlig verschwinden.

Fassen wir nun die Ergebnisse unserer Uebersicht kurz zusammen, so wäre festzustellen:

Die Schwierigkeiten, die sich einer vererbungstheoretischen Ausdeutung und Wertung der bei asexuellen Mikroorganismen — vor allem Bakterien und Trypanosomen — auftretenden Veränderungen zunächst entgegenstellen, ließen sich durch eine Untersuchung der Variabilitätserscheinungen von Protozoen (Infusorien) überwinden. Denn die meisten bei Infusorien beobachteten Veränderungen entsprechen in ihrem Verhalten bei vegetativer Vermehrung durchaus den Umstimmungen der Bakterien und Trypanosomen. Bei Infusorien stehen uns aber daneben die durch die Sexualitätserscheinungen gebotenen Prüfungsmöglichkeiten zur Verfügung, so daß wir mit ihrer Hilfe zu einem richtigen Vergleich der Variabilitätsformen der Protisten mit denen der Tiere und Pflanzen gelangen können. Bei einem solchen richtigen Vergleich fallen die scheinbaren Widersprüche in dem Verhalten der hier und dort beobachteten Veränderungen vollkommen fort, sind sie doch in erster Linie auf eine durch unscharfe Begriffsbestimmung und unzureichende tatsächliche Feststellungen hervorgerufene falsche Homologisierung zurückzuführen.

Die genotypischen Veränderungen, Mutationen und Kombinationen, die von der experimentellen Erblichkeitsforschung bei Tieren und Pflanzen bisher in erster Linie behandelt worden sind, treten nach unseren heutigen Kenntnissen bei den Mikroorganismen stark zurück hinter den das Bild der Variabilität hier beherrschenden plasmatischen (im weitesten Sinne) Umstimmungen, den Dauermodifikationen. Die Um-

stimmungen der Protisten können somit im allgemeinen nicht mit den Genveränderungen, den Mutationen, bei Pflanzen und Tieren verglichen werden, sondern nur mit den bei vielzelligen Organismen erst wenig bekannten und geprüften Auswirkungen plasmatischer Veränderungen der Keimzellen. Und es ist sehr wohl möglich, daß auf diesem für die weitere Entwicklung der allgemeinen Vererbungslehre jetzt besonders wichtigen Gebiete gerade die Mikrobiologie Wesentliches zur Erweiterung unserer Kenntnisse und Vertiefung unserer Erkenntnis wird beitragen können. —

Bei unserer allgemeinen Darstellung der Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen der Mikroorganismen mußten theoretische Auseinandersetzungen notwendig einen breiten Raum einnehmen, da nur auf diese Weise eine Klärung der hier auf bakteriologischem Gebiete noch herrschenden Verwirrung möglich erschien. Und da im Rahmen dieser Tagung die beobachteten interessanten Tatsachen zum großen Teile bereits in dem den allgemeinen Variabilitätserscheinungen gewidmeten Referate vorweggenommen oder den besonderen Berichten über die Bedeutung der Variabilität für Epidemiologie und Chemotherapie vorbehalten sind, so mußten diese theoretischen Auseinandersetzungen hier noch stärker in den Vordergrund treten, — vielleicht sehr zum Mißbehagen so manches vorwiegend auf rein praktische Fragen eingestellten Bakteriologen. Aber eine Mikrobiologie, die höhere Aufgaben kennt, als die einer Nährbodenbereitung und -verbesserung, und die sich nicht nur mit der Rolle einer Helferin im Kampfe gegen Infektionskrankheiten begnügt, sondern den Anspruch macht, eine Wissenschaft, eine wirkliche Biologie zu sein, darf natürlich auch der Behandlung und Klärung allgemeiner biologischer Fragen nicht aus dem Wege gehen. Daß aber eine solche Klärung der allgemeinen Variabilitäts- und Vererbungserscheinungen dann auch für die Probleme von höchster praktischer Tragweite eine nicht zu unterschätzende Bedeutung besitzt, mag hier im Anschluß an unsere Darlegungen nur noch kurz gestreift werden:

So kann die Chemotherapie natürlich nicht an der Erkenntnis vorübergehen, daß es sich bei den erzielten Veränderungen der Mikroorganismen vorwiegend um Dauermodifikationen, d. h. also um rückbildbare Umstimmungen handelt; und sie kann aus der Feststellung, daß Dauermodifikationen in der Regel durch schroffen Wechsel oder tiefgreifende Veränderungen der Außenbedingungen zum Schwinden gebracht werden, manchen praktischen Nutzen ziehen.

Auch manche speziellere Probleme, so die alte Variola-Vakzine-Frage, bekommen auf Grund der Einsicht in das Wesen der Dauermodifikationen ein von den landläufigen Vorstellungen nicht unwesentlich abweichendes Gesicht, und es eröffnet sich die Möglichkeit erneuter experimenteller Bearbeitung.

Und Dauermodifikationen der betreffenden Erreger, ihr Entstehen und Vergehen, dürften wohl bei Virulenzschwankungen und bei den Unterschieden im Charakter und Verlauf verschiedener Epidemien der gleichen Aetiologie wie auch mancher Einzelerkrankung in vielen Fällen eine fast ausschlaggebende Rolle spielen.

Ganz allgemein aber läßt sich sagen, daß auf Grund der Ergebnisse der Variabilitäts- und Erblichkeitsforschung bei Mikroorganismen sich unsere allgemeinen Vorstellungen über die Bedingungen der Infektionskrankheiten nicht unwesentlich erweitern und verschieben:

Während in einer frühen Periode bakteriologischer Forschung allein die Anwesenheit der Erreger als ausschlaggebend für das Zustandekommen der Erkrankung betrachtet wurde, während dann die Anschauung von der Bedeutung der Empfänglichkeit der einzelnen Individuen als gleichberechtigter zweiter Faktor sich durchsetzte, müssen wir jetzt erkennen, daß auch die Erreger selbst nichts Unveränderliches, schlechtweg Gegebenes, sondern ein in verschiedenster Weise umstimmbares Material darstellen. In gleicher Weise wie die Disposition des infizierten Individuums ist somit auch die jeweilige Disposition des Krankheitserregers ein — im einzelnen noch näher zu erforschender — Faktor von fundamentalster epidemiologischer und klinischer Bedeutung.

Aussprache (zu den Referaten I und II).

Schnabel (Berlin): 1) Eine aus einem Lumbalpunktat gezüchtete „Rosahefe" wurde zur Immunisierung von Kaninchen verwandt. Das Serum der behandelten Tiere enthielt reichlich Agglutinine für Typhus- und Flexner-Bazillen, nicht aber für Paratyphus A- und B- und Shiga-Kruse-Bazillen. Es liegt nahe, den Ausfall der Versuche auf ein natürliches heterogenetisches Antigen der angewandten Hefe zurückzuführen. Für die Annahme, daß es sich um ein künstliches, angezüchtetes heterogenetisches Antigen handeln könnte, wie es die Paragglutination darstellt, konnte kein Anhaltspunkt gewonnen werden.

2) Um festzustellen, inwieweit die Empfindlichkeit einer Kultur vom Empfindlichkeitsgrad der Einzelindividuen abhängt und ob bei der Giftfestigkeit von Bakterien die Selektion eine Rolle spielt, wurden Mischungen von gefestigten und normalen Keimen in verschiedenem Verhältnis zueinander hergestellt und dieselben nach 24stünd. Bebrütung auf ihre Empfindlichkeit untersucht. Dabei zeigte es sich, daß mit Abnahme der Menge der zu der normalen Kultur zugesetzten gefestigten Keime die resultierende Empfindlichkeit der 24stünd. Population größer wurde. Es durfte daraus geschlossen werden, daß, je mehr feste Keime in einer Kultur enthalten sind, um so gefestigter eine solche Kultur erscheint. Hierauf wurde die gefestigte Kultur fortlaufend verdünnt und von den Verdünnungen Abimpfungen in sterile Nährbouillon ohne Zusatz normaler Keime vorgenommen. Die Prüfung der so erhaltenen Kulturen ergab, daß allein schon die Verdünnung der gefestigten Kultur genügt, um Populationen mit höherer bzw. normaler Empfindlichkeit zu bekommen. Allem Anscheine nach sind in einer gefestigten Kultur neben „festen" Individuen auch solche mit höherer bzw. normaler Empfindlichkeit, und zwar, wie es scheint, in überwiegender Menge, so daß mit der Verdünnung der gefestigten Kultur das prozentuale Verhältnis zwischen den gefestigten und empfindlicheren Keimen sich zugunsten der letzteren verschiebt. Die 24stünd. Bebrütung der Verdünnungen war eine Kontrolle dafür, daß nicht etwa Keimzahldifferenzen Empfindlichkeitsunterschiede vortäuschen.

Seiffert (Freiburg) berichtet über einige Versuche, die Herr Yu im Freiburger Hygieneinstitut an Varianten der Typhus-Paratyphus-Ruhrgruppe durchgeführt hat.

I. Rezeptorenanalyse: Einige Varianten von Mäusetyphusbazillen waren zunächst inagglutinabel und wurden dann langsam agglutinabel, aber nur kleinflockig, während die Ausgangsformen grob ausflockten. Die Rezeptorenanalyse nach Weil und Felix ergab, daß sowohl Ausgangsform wie Variante dieselben zwei Rezeptoren besaßen, doch war der (grobflockende) Hauptrezeptor der Ausgangsform Nebenrezeptor der Variante, der (kleinflockende) Hauptrezeptor der Variante Nebenrezeptor der Ausgangsform. Im Bindungsversuch ließ sich im allgemeinen nur der Hauptrezeptor nachweisen, der Nebenrezeptor trat erst im Bildungsversuch in Erscheinung. — Es gelang, die Varianten in die Ausgangsform zurückzuführen.

II. Kapillarchemische Untersuchungen an Varianten: Vergleichende Untersuchungen an agglutinablen und inagglutinablen Varianten von Typhus-, Mäusetyphus- und Ruhrbazillen ergeben: 1) Inagglutinable Bakterien lieferten mit dem Traubeschen Stalagmometer eine größere Tropfenzahl als

agglutinable. 2) Im Kapillarsteigversuch nach Friedberger steigen inagglutinable Bazillen erheblich schlechter als agglutinable. 3) Durch Kieselgur, Tierkohle usw. werden inagglutinable Bazillen viel besser adsorbiert als agglutinable. 4) Das aktive Adsorptionsvermögen der Bakterien für Trypaflavin nach Hahn ließ sich nicht einwandfrei feststellen, da die vorgeschriebene Farbstoffmenge die Keime größtenteils abtötete. 5) Bei Ausfällungsversuchen durch verschiedene Salze ergaben sich keine deutlichen Differenzen; belud man die Stämme zuvor mit Agglutinin (Bechold, Neisser und Friedemann), so wurden die bindenden agglutinablen Stämme natürlich leichter gefällt als die nichtbindenden inagglutinablen. 6) Auch die Säureagglutination (Michaelis) unterliegt der Variation, doch hat das Variieren der Säureagglutination nichts mit dem Variieren der Serumagglutination zu tun. 7) Einige Mäusetyphusvarianten, die weder Agglutinine noch Komplement banden, waren erheblich weniger virulent als die gut bindenden Ausgansformen. — Daraus könnte man folgern, daß das Unvermögen, Agglutinine (und Komplement) zu binden, auf eine zu geringe Oberflächenspannung der Bakterien zurückgeht; demgemäß stieg auch die Oberflächenspannung, sobald eine Variante agglutinabel wurde; endgültige Schlüsse dürfen freilich nur aus einem viel größeren Material gezogen werden. — Die Virulenz geht der Anfälligkeit der Bakterien einem Immunserum gegenüber in vitro nicht parallel. — Sämtliche Varianten verhalten sich in der bunten Reihe durchaus wie üblich; die Differentialnährböden sind also zur Diagnostik viel brauchbarer als kapillarchemische Methoden.

III. Symbioseversuche: Die relativ große Zahl inagglutinabler Varianten wurde durch die von Herrn Geheimrat Uhlenhuth inaugurierte Züchtung in Symbiose mit anderen Mikroorganismen gewonnen; die Symbiose mit bestimmten Organismen (z. B. Spirillum volutans) rief dabei immer wieder viel eingehendere Veränderungen hervor als die Symbiose etwa mit B. coli. Die Variation unter dem Einfluß der Symbiose scheint also nicht allein auf den verstärkten Nahrungsmangel zurückzugehen.

Philipp (Berlin): Wenn ich als Kliniker vor Ihnen zu sprechen wage, so geschieht es, weil ich über Virulenzänderungen der Streptokokken bei menschlichen Infektionen berichten möchte, die in das Gebiet der Variabilität gehören.

Mittels der von Ruge angegebenen Methode der Virulenzbestimmung gelingt es, virulente von avirulenten Streptokokken zu trennen. Bei dem von mir danach angegebenen Verfahren wird das Blut der betreffenden Patienten in bestimmter Verdünnung mit dem streptokokkenhaltigen Material beimpft, und dann wird sofort und nach 3 Std. je eine Blutagarplatte gegossen, die nach 24 Std. verglichen werden. Zunahme der Kol. spricht für Virulenz, Abnahme für Avirulenz.

Es ist somit möglich, virulente Keime aufzufinden und das therapeutische Handeln danach einzurichten. Ich kann auf Einzelheiten hier nicht eingehen und möchte nur beiläufig erwähnen, daß das Verfahren von uns u. a. angewandt wird zur Beurteilung der Schwere eines Falles von Fieber im Wochenbett (—sofern es sich um eine Streptokokkeninfektion handelt —) und auch bei der Untersuchung eines jeden Karzinoms der weiblichen Genitalien. Sind virulente Streptokokken vorhanden, so wird die Patientin nicht operiert, sondern bestrahlt. Von 4 Frauen, bei denen vor der Operation virulente Streptokokken festgestellt wurden, starben 3 an Peritonitis und Sepsis sofort nach der Operation — es handelte sich um die Exstirpation des Uterus mit Adnexen samt Drüsen und parametranem Bindegewebe — und eine bekam eine schwere Infektion, der sie schließlich auch erlag; dagegen starb von 72 Frauen mit avirulenten Keimen keine nach der Operation, eine kam nach $3^1/_2$ Monate langem Krankenlager ad exitum an allen möglichen Komplikationen.

Aehnlich liegen die Dinge auf anderen Gebieten.

Weiterhin kann man mittels der Probe Virulenzänderungen beobachten. Eine Abnahme der Virulenz der Streptokokken läßt sich bei regelmäßigen Blutentnahme z. B. u. a. verfolgen im Verlauf einer Blutsepsis, oder auch hochvirulente Streptokokken einer lokalen Infektion, z. B. einer Endometritis, können in den avirulenten Zustand übergehen. Damit stimmt das Krankheitsbild überein; das Fieber fällt ab.

Wichtiger für den Kliniker und namentlich den Geburtshelfer ist die Virulenzsteigerung, da mit ihr verbunden ist die Frage der Selbstinfektion, die von vielen bisher geleugnet wurde. Ausgehend von klinischen Beobachtungen, von denen noch die Rede sein soll, haben Herr Fuß und ich versucht, eine Virulenzsteigerung auch in vitro zu erzielen.

In Anlehnung an Versuche von Küstner haben wir zunächst Fäulnisorgane unter Luftabschluß mit avirulenten Streptokokken beimpft, ohne Erfolg. Die avirulenten Streptokokken wurden nicht virulent. In vielen Fällen war die Entscheidung, ob eine Virulenzsteigerung vorlag oder nicht, unmöglich infolge der Beimengung von zahlreichen anderen Bakterien.

Darum pasteurisierten wir die Organstücke 2—3 Std. lang im Wasserbad.

Wir verwandten zu diesen Versuchen 3 avirulente grüne Tonsillarstämme, 3 avirulente, frische hämolytische Vaginalstämme und 3 avirulent gewordene, früher virulente hämolytische Laboratoriumsstämme, die auch aus der Vagina stammten. Von diesen wurden auf diese Weise die Laboratoriumsstämme schnell virulent, während die frischen Stämme avirulent blieben, oder u. U. mehrerer Passagen zur Virulenzsteigerung bedurften. Wir benutzten Plazenta, Karzinomgewebe und fötale Organe.

Da wir Organabbauprodukte als virulenzsteigernd annahmen, suchten wir dieselbe Wirkung zu erzielen mit Präparaten, wie sie im Handel sind und Organextrakte darstellen, z. B. Ovoglandol, Luteoglandol. Diese machten auch frische avirulente Streptokokken virulent.

Wir gingen dann weiter und benutzten als virulenzsteigernde Zusätze Spuren von Aminosäuren, und zwar Leucin, Tyrosin, Histidin und Alanin.

Versuche in ähnlicher Richtung hatte bereits Küstner unternommen, ausgehend von der Behauptung Marmoreks, daß Streptokokken mehr Toxin produzierten, wenn sie in Bouillon mit Leucin und Glykokoll gezüchtet wurden.

Mit diesen Substanzen wurden in 76 Versuchen 12 Streptokokkenstämme geprüft, und zwar 4 in der Kultur avirulent gewordene, primär virulente hämolytische Streptokokken, 6 frische, primär avirulente hämolytische Stämme und 2 primär avirulente grüne Stämme.

Von der 1. Gruppe gelang die Umwandlung gleich in der 1. Passage bei 2 Stämmen, von den 6 frischen, primär avirulenten Stämmen ließen sich 3 in den virulenten Zustand überführen, und zwar einer sofort, 2 bei weiteren Passagen. Am schwersten lassen sich die ausgesprochenen grünen Streptokokken beeinflussen; erwähnen möchte ich jedoch, daß ein avirulenter grüner Stamm, der von einer Endocarditis lenta stammte, bei Zusatz von Leucin sofort in eine hämolytische virulente Form überging. Der Stamm blieb hämolytisch und ist jetzt avirulent.

Ihren Ausgangspunkt nahmen diese Versuche von Beobachtungen am Karzinom der weiblichen Genitalien. Man wußte, daß ein Karzinom für die Operation schlechtere Heilungsbedingungen bot, wenn es vorher aus irgendeinem Grunde tamponiert war. Wir haben deshalb eine Reihe von Karzinomen, die avirulente Streptokokken hatten, tamponiert. Nach 24 Std. war noch keine Veränderung eingetreten, nach 48 Std. aber waren manchmal schon virulente Streptokokken vorhanden und fast regelmäßig, wenn der Tampon noch länger gelegen hatte.

Es ist möglich, daß bei der hierbei stattfindenden Fäulnis und Jauchung ähnliche Stoffe eine Rolle spielen wie bei unseren Reagenzglasversuchen.

Pesch (Köln): siehe Nr. 35. Seite *261.

Schumacher (Berlin): siehe Nr. 36. Seite 266*.

Grütz (Kiel): siehe Nr. 37. Seite 268*.

Pribram (Wien): Im Anschluß an die eben gehörten Referate möchte ich aus der Fülle der Mikroorganismen, die ich untersucht habe, einen besonders interessanten Vertreter vorstellen, der einerseits wegen seiner außerordentlichen Variabilität, andererseits wegen der Seltenheit seines Vorkommens besonders erwähnenswert ist. Ich erhielt diese Kultur nebst anderen aus Insekten kultivierten Mikroorganismen vor kurzem von Mahdihassan in Bangalore (Indien). Dieser Autor bezeichnete ihn als Monilia nigra mit der Bemerkung „not the same, as discovered by Brown". Die Kultur variiert in folgende Arten: Monilia variabilis Lindner und Oospora variabilis Lindner, denen sie, besonders bei anaërober Züchtung, am nächsten steht, ferner als dunkelfarbiger Pilz, als Dematiacee gleichzeitig in die Gruppen Conisporea (mit akrogenen einzelnen Konidien), und da die Konidien auch in Büscheln auftreten als Echinoderma, da sie in Oidienketten

zerfällt, auch als Torula, alle aus der dunkelfarbigen Gruppe der Phaeosporea; da sie aber bei streng anaërobem Wachstum hyalines Mycel und hyaline Sporen bildet, kann sie auch als Oospora auftreten. Betrachtet man eine junge Oberflächenkultur der gleichen Kultur, so sieht man fast ausschließlich zugespitzte Hefezellen nach Art der Pichia (Saccharomyces apicatus) oder auch Formen, welche man als Saccharomyces anomalus bezeichnen kann. Nun sieht man aber auch einzelne ovale Zellen, welche sich ganz nach Art eines Schizosaccharomyces teilen, andere, bei welchen der Zellinhalt sich vor der Teilung von der Membran ablöst, so daß man den Eindruck einer Sporenbildung gewinnt, ohne daß ich diese Formen mit Sicherheit als Sporen ansehen kann (bisher gelang keine Sporenfärbung, was allerdings bei Hefen besonders im Frühstadium der Spore nicht ausschlaggebend ist). Wird die Oberflächenkultur etwas älter, dann wächst sie in den Agarnährboden hinein, und die Tiefenkolonien zeigen ganz den oben erwähnten Charakter der Oospora (Oidienbildung), so daß dann die oberflächlich liegenden Hefezellen wie Konidien der Oospora aussehen; solche Konidien entstehen auch tatsächlich, wie erwähnt, akrogen aus den Hyphen des in Oidien zerfallenden Pilzmycels, so daß die Frage sich aufdrängt, ob ein prinzipieller Unterschied zwischen der Hefeform und der Konidienform besteht, um so mehr, als die einen wie die anderen sprossen, also typischen Hefecharakter tragen.

Da ich in einer kurzen Diskussionsbemerkung auf die Bedeutung dieser Vielseitigkeit der Formen ein und desselben Mikroorganismus (Einzellkultur) nicht eingehen kann, habe ich mir vorbehalten, in meinem Vortrage auf diese interessante Kultur nochmals zurückzukommen. Hier will ich nur noch erwähnen, daß in der Literatur nur etwa 6 schwarze Hefen (3 von Will) beschrieben sind, einige davon vielleicht untereinander identisch sind, daß ich selbst 3 in der Literatur noch nicht beschriebene schwarze Hefen besitze; eine in meinem Laboratorium von Emil Löwy gezüchtete, eine von Prof. Askanazy (Genf) aus dem Magen einer Leiche, eine dritte, die eben erwähnte, aus einem Insekt (wahrscheinlich aus dem Fettkörper) von Mahdihassan. (Demonstration der drei schwarzen Kulturen.) Die Willschen Hefen bilden zum Teil ein Luftmycel, das aber aus Sproßzellen besteht, daher als Sproßmycel bezeichnet wird; die drei demonstrierten bilden kein Luftmycel; die hier beschriebene wächst im Gegenteil in den Nährboden hinein, wobei die Oberfläche einsinkt. Da die Hefenform der Kultur auch als Schizosaccharomyces auftritt, will ich nur erwähnen, daß es nur wenige Schizosaccharomyceten gibt (ich besitze: Pombe, octosporus, mellacei, ferner eine kürzlich von Osterwalder (Waedenswil) veröffentlichte: mucilaginosa); es wird kaum mehr als 6—8 bekannte Arten geben. — Bezüglich alles übrigen verweise ich auf meinen Vortrag (vergl. Nr. 38, Seite 274*).

Kuhn (Dresden): siehe Nr. 39, Seite 280*.

Schottmüller (Hamburg)[1]: Gegenüber Gotschlich, der in seinem Vortrag über die Variabilität der Mikroorganismen auf die Streptokokkenfrage Bezug genommen und sich auf den Standpunkt gestellt hat, daß es verschiedene Arten von pathogenen Streptokokken nicht gäbe, muß S. unbedingt daran festhalten, daß die von ihm seit langen Jahren durchgeführte Differenzierung zu Recht besteht. Schon die Tatsache, daß der Streptococcus putrificus — ein obligater Anaërobier — nach den Untersuchungen von S. in der menschlichen Pathologie eine große Rolle spielt, beweist dieses. Aber auch der Streptococcus pyogenes haemolyticus und der Streptococcus viridans seu mitior sind streng voneinander zu trennende Keime. Weder spricht gegen diese Auffassung der Umstand, daß der Streptococcus viridans gelegentlich hämolytisch wirkt, noch daß gewisse Stämme des hämolytischen Streptococcus scheinbar in eine vergrünende Form umgewandelt werden können.

Einer der sichersten Beweise der Artverschiedenheit der in Rede stehenden Kokken ist der Schottmüllersche Bakterizidieversuch im Menschenblut. In diesem wird der Streptococcus viridans durchweg abgetötet, während der Streptococcus haemolyticus sich nach vorübergehender Hemmung des Wachstums schrankenlos vermehrt.

Die Umwandlungsversuche von Zöppritz sind schon von Le Blanc ihrer Beweiskraft entkleidet worden.

---

1) Erschien in erweiterter Form i. d. M. m. W. 1924. Nr. 30.

Vor allen Dingen sprechen die Erfahrungen in der menschlichen Pathologie durchaus gegen die Berechtigung des unitarischen Standpunktes. Niemals hat S. bei Infektionsprozessen beim Menschen einen Uebergang der einen Keimart in die andere beobachten können. (Endocarditis!)

Auch die Virulenzänderung der Streptokokken, die Herr Philipp mit Hilfe des Rugeschen Virulenzversuchs im Eigenblut gefunden haben will, kann nicht als Zeichen einer Variabilität angesehen werden, um so weniger, als den Ergebnissen der Ruge-Philippschen Methodik größte Skepsis entgegengebracht werden muß, weil eine Nachprüfung in der Klinik von S. zu entgegengesetzten Resultaten führte. Maßgebend ist, wie S. immer wieder betonen muß, für den Verlauf und Ausgang einer Streptokokkenerkrankung der Sitz der Infektion.

S. hat die Bezeichnung „Virulenzverhältnis" eingeführt[1]), weil mit dieser Wortverbindung prägnanter als mit dem Worte Virulenz zum Ausdruck kommt, daß bei einer Infektion nicht nur die Virulenz des Krankheitskeimes, sondern auch die Widerstandsfähigkeit des infizierten Menschen für den Verlauf der Krankheit im speziellen Fall von maßgebender Bedeutung ist.

Wenn S. also auch der Ansicht ist, daß zwar Wachstumseigentümlichkeiten auf gebräuchlichen oder ungebräuchlichen Nährböden gewisse Variationen der Krankheitskeime erkennen lassen, so muß er doch unbedingt nach seinen Erfahrungen dafür eintreten, daß die Spezifitätslehre der pathogenen Bakterien unverkümmert aufrecht erhalten wird.

Das ist die Lehre, die S. aus einer 25jährigen Arbeit als Bakteriologe und Kliniker zieht.

Reiner Müller (Köln): Herr Jollos hat mit Recht betont, daß „Mutation" die Erbsubstanz verändere. Bei den Protozoen und den anderen mit einem Chromosomenkern versehenen Lebewesen darf man sich diese den Genotypus verkörpernde Erbsubstanz an Chromosomen gebunden denken und darf Protoplasmavariationen in Gegensatz zu Mutationen stellen. — Nichts aber rechtfertigt es, in Bakterien Protoplasma und Erbsubstanz zu unterscheiden. Alle bekannten Tatsachen lassen sich vielmehr am besten so erklären, daß Bakterien und die anderen einfachen Lebewesen ohne Chromosomenkern entweder ganz aus der Erbsubstanz bestehen, oder daß diese gleichmäßig in ihnen verteilt ist; daß also diese Lebewesen als Ganzes Aequivalente von Chromosomen oder gar Chromomeren sind. Ich habe deshalb 1911 vorgeschlagen, alle diejenigen Lebewesen, die keine Chromosomenkerne zeigen, als Bakterienreich (Regnum bacteriorum) von den beiden Reichen mit Chromosomenkernen, dem Tierreich und dem Pflanzenreich, zu trennen; was sich außerdem im Interesse der Bakteriologie als selbständiger Wissenschaft empfiehlt.

Neufeld (Berlin): Ich möchte über einige Beobachtungen zur Frage der Veränderlichkeit von Strepto- und Pneumokokken berichten, die im Laufe der letzten Jahre teils von Herrn Kollegen Schiemann, teils von mir gemacht und größtenteils noch nicht veröffentlicht sind, und die uns ebenso wie andere Untersucher zu dem Standpunkt zurückgeführt haben, den schon vor vielen Jahren Kruse und Pansini vertreten haben, daß nämlich Strepto- und Pneumokokken aus einer gemeinsamen Wurzel stammen und daß alle die verschiedenen Formen dieses Kreises ineinander übergehen.

Ich habe seinerzeit die Auflösung der Pneumokokken durch gallensaure Salze und das entgegengesetzte Verhalten der Streptokokken beschrieben, das jetzt allgemein als eins der wichtigsten Differenzierungsmittel benutzt wird. Ich habe aber sogleich angegeben, daß avirulente Pneumokokken nicht durch Galle gelöst werden. Bei meinen weiteren Untersuchungen habe ich lange Zeit Uebergangsformen vermißt, d. h. Stämme, die unvollständig durch Galle gelöst werden. Solche haben wir neuerdings in verschiedenen Abstufungen gefunden und dabei festgestellt, daß häufig zunächst eine typische großklumpige Agglutination als Vorstadium der Auflösung oder als erste Andeutung einer spezifischen Beeinflußbarkeit durch Galle bei solchen intermediären Stämmen auftrat. In einem Fall, wo

---

1) Schottmüller, Wesen und Behandlung der Sepsis. Verhandl. d. D. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden 1914.

eine Maus mit Bronchitissputum injiziert war, zeigten die nach 24 Std. durch Punktion der Bauchhöhle erhaltenen Pneumokokken sämtlich starke Agglutination, während 24 Std. später die Kokken in dem Exsudat der Bauchhöhle sich sämtlich typisch durch Galle lösten. Hier hat offenbar im Tierkörper eine allmähliche Umwandlung aus schwach virulenten, nicht durch Galle beeinflußten Kokken durch die Zwischenstufe der durch Galle agglutinierten hindurch in virulente, gallelösliche Pneumokokken stattgefunden; mir erscheint der Fall deshalb von besonderem Interesse, weil hier wohl der Einwand nicht zutrifft, daß nur eine Auslese, nicht aber eine Umwandlung stattgefunden habe.

In weiteren Beobachtungen ergab sich, daß Virulenz und Gallelöslichkeit zwar in der Regel, aber nicht immer parallel gehen; wir haben ganz avirulente und dabei ziemlich gut lösliche Stämme beobachtet, und auf der anderen Seite virulente, die sich weder in der Kultur noch im Blut oder Peritonealexsudat durch gallensaures Salz lösten.

Daß auch die Agglutinabilität für das zugehörige Serum verloren gehen und dafür eine Agglutination mit heterologem Serum, ja selbst mit Streptokokkenserum, auftreten kann, hat schon Yoshioka beschrieben. In solchen Fällen kann die Unterscheidung von Streptokokken unmöglich sein, und zwar auch bei virulenten Stämmen. So erklärt sich eine Beobachtung, die ich vor beinahe 10 Jahren an dem alten Pneumokokkus I von Neufeld und Haendel machte, der in der bei uns üblichen Weise als Exsikkatormaterial aufbewahrt wurde. Aus einer mit diesem Material injizierten Maus wurde ein in Ketten wachsender, in Galle unlöslicher, aber mäusevirulenter Kokkus gezüchtet, der alle Eigenschaften eines typischen Streptokokkus zeigte. Ich habe damals geglaubt, es sei eine Verwechselung vorgekommen, jetzt aber nehme ich als sicher an, daß es sich um eine Umwandlung gehandelt hat, zumal Schiemann inzwischen eine durchaus entsprechende Beobachtung an einem Pneumokokkus gemacht hat, der uns aus Kopenhagen ebenfalls als Trockenmaterial zugesandt wurde und der nachher in einen typischen Pneumokokkus zurückschlug.

Auch das Verhalten gegen Optochin fanden wir ebenso schwankend, wie das gegen Galle. Von morphologischen Veränderungen haben wir nicht nur Kettenbildungen, sondern auch höchst auffallende, völlig staphylokokkenähnliche Formen beobachtet. Auch das Verhalten auf der Blutplatte und ebenso auf der Bielingschen Platte ist sehr veränderlich und zeigt alle Uebergänge zwischen den Extremen. So wertvoll die Blutplatte nach Schottmüller als differentialdiagnostisches Mittel für den Bakteriologen wie für den Kliniker ist, so gehört doch gerade dieses Merkmal nach unseren Erfahrungen zu den allerunbeständigsten.

Was die Schwankungen der Virulenz betrifft, so hat Schiemann neuerdings Fälle beobachtet, in denen eine völlig avirulente, aus unserem maximal virulenten Pneumokokkus I abgespaltene Kultur, die in der Dosis 0,5 von Mäusen vertragen wurde, nach einiger Zeit spontan zu starker Virulenz zurückschlug; auch diese Beobachtung ist nicht dadurch zu erklären, daß einzelne hochvirulente Keime übriggeblieben sind, sondern nur durch Rückverwandlung der avirulenten in virulente Kokken.

In zahlreichen Versuchen ergaben avirulente oder schwach virulente Pneumokokken sehr schlechte immunisierende Wirkung; neuerdings haben wir aber ganz avirulente Pneumokokken gefunden, die sowohl lebend wie auch abgetötet recht gut immunisierten; also geht auch der Verlust der antigenen Wirkung ebenso wie alle anderen vorher besprochenen Veränderungen mit dem Verlust der Virulenz zwar in der Regel, aber nicht immer, Hand in Hand.

Ueberhaupt liefern uns die Pneumo- und Streptokokken ausgezeichnete Beispiele dafür, daß bei den Bakterien, ähnlich wie bei höheren Lebewesen, gewisse Eigenschaften in der Regel gleichzeitig erworben werden bzw. gleichzeitig verloren gehen, daß aber stets Ausnahmen vorkommen. Bei den geschlechtlich sich vermehrenden Organismen wird diese als „Anlagenkoppelung" bezeichnete Erscheinung dadurch erklärt, daß die betreffenden Erbeinheiten in benachbarten, schwer voneinander zu trennenden Chromomeren lokalisiert sind. Da auch sonst die Veränderungen, die wir an den einzelligen Organismen, speziell an den Bakterien, beobachten, im allgemeinen durchaus denselben Gesetzen folgen, wie die an höheren Lebewesen beobachteten, so darf man vielleicht vermuten, daß auch bei der Vermehrung von Bakterien ähnliche komplizierte Vorgänge in den chromatischen Bestandteilen des Zellleibes vor sich gehen, wie sie bei höher organisierten Organismen bekannt sind.

M. Neisser (Franfurt a. M.): Wenn die Zoologen die Gene als unveränderlich, also sich stets gleichbleibend hinstellen, so wird man sich darüber klar sein müssen, daß der Menschengeist im Bereiche des Empirischen, in dem es nur Aehnliches, aber nichts Gleiches gibt, immer die Abstraktion des Gleichen vornimmt, daß es aber beobachtete Gene nicht geben kann. Es bleibt nichts anderes übrig, als sich über die Gruppierung des „Aehnlichen" zu einigen, ob das nun ganze Mikroorganismen betrifft oder nur Teile. Hinsichtlich des Ueberganges der Arten darf nicht vergessen werden, daß die Veränderung und die Konstanz Postulate des Denkens sind.

Seligmann (Berlin): siehe Nr. 40, Seite 288*.

H. Braun (Frankfurt a. M.): Was die Frage betrifft, ob serumfeste Trypanosomen bei Weiterzüchtung in den Ausgangsstamm zurückschlagen können, so muß diese Frage nach unseren Erfahrungen bejaht werden. Die Untersuchungen von Ritz mit Einzellenzüchtungen, in denen ein Rückschlag nicht beobachtet wurde, können keinen Anspruch auf Allgemeingültigkeit haben. Mit meinem leider so früh verstorbenen Mitarbeiter, Dr. E. Teichmann, habe ich mit Einzellenzüchtungen Versuche gemacht, und wir haben uns davon überzeugt, daß nach vielen Passagen in Mäusen einzelne Stämme zum Ausgangsstamm zurückschlagen. Daraus geht also hervor, daß es sich bei den serumfesten Trypanosomen nicht um Mutationen, sondern um Dauermodifikationen im Sinne von Jollos handelt. (Unveröffentlichte Versuche.)

Eine Bemerkung möchte ich mir zum Vortrag von Herrn Pesch erlauben. Zusammen mit Feiler und Goldschmidt habe ich mich mit der Wundinfektion der Meerschweinchen mit Diphtheriebazillen beschäftigt. Gegen unsere Versuche wurde von Reinhardt der Einwand gemacht, daß es sich nicht um eine Infektion, sondern um eine reine Intoxikation handelt. Es soll nicht bestritten werden, daß es Diphtheriestämme gibt, deren abgetötete Kochsalzaufschwemmungen von Loeffler-Serum so viel Gift enthalten, daß schon durch dieses allein der Tod des Tieres herbeigeführt wird. Wir haben allerdings einen solchen Stamm noch nicht in den Händen gehabt. Mit Toluol abgetötete Kochsalzaufschwemmungen der von uns benutzten Stämme enthielten in den zum Infektionsversuch verwendeten Mengen kein nachweisbares Gift. Dagegen zeigten uns histologische Untersuchungen, daß die Diphtheriebazillen von der Wundoberfläche in das Wundgewebe eindringen und sich in demselben vermehren. Die Vermehrung hält sich in mäßigen Grenzen. Daß es Herrn Pesch nicht gelungen ist, die Wunden steril zu halten, das bestätigt alte Erfahrungen der Chirurgen. Ich möchte hier nur auf die grundlegenden Arbeiten von Conrad Brunner hinweisen.

Reichel (Wien): Herr Gotschlich hat auf den Widerspruch hingewiesen, der in der Häufigkeitsverteilung oder Streuung von Merkmalen der Mikroorganismen zu bestehen scheint, indem die jüngst von der Schule Kißkalts durchgeführten Ermittlungen über die Längenstreuung das auch sonst in der Biologie und Physik übliche Ergebnis einer symmetrischen Häufigkeitskurve hatten, während die älteren Feststellungen Reichenbachs über die Resistenzstreuung in Kulturen eine völlig einseitige, nur abfallende Häufigkeitskurve annehmen lassen. Hierzu sei bemerkt: Reichenbach hat die zuerst von Madsen und Nyman an den Versuchsergebnissen von Paul Krönig errechnete einfach logarithmische Abnahme der Keimzahlen bei Desinfektionsversuchen durch zahlreiche besondere Versuche in der Hauptsache bestätigt und dafür die zweifellos richtige Erklärung einer Resistenzgliederung der Keime in der Kultur gegeben. Aus dem einfach logarithmischen Fallen der Keimzahlen ergibt sich dann der Schluß auf eine nur fallende Häufigkeit der höheren Resistenzwerte. Es können aber schon ganz kleine Abweichungen im Anfangsteile der Keimzahlkurven, wie solche bei Reichenbachs und besonders bei Eijkmans Versuchen auch wirklich vorkommen, als Ausdruck eines tatsächlich bilogarithmischen Verlaufes der Keimzahlkurve — als „Ogive" im Sinne Galtons, wenn durch Drehung um 90° die der Größe nach aufgereihte Lebensdauer betrachtet wird — gedeutet werden. Das heißt m. a. W.: Die beobachteten Abtötungszeiten sind zu kurz, als daß auch der aufsteigende Teil der Streuungskurve zur Beobachtung kommen könnte. Die aus dieser Vorstellung sich ergebende Streuungskurve wäre nun allerdings auch ganz asymmetrisch, der ansteigende Teil überaus steil im Vergleich mit dem allein beobachteten abfallenden. Solche Asymme-

trien sind aber nicht verwunderlich und gerade in der Biologie keineswegs selten. Erinnern wir uns, daß die allgemeinere Form des Fechnerschen Streuungsgesetzes ja die logarithmische ist, d. h. daß verhältnismäßig (zum häufigsten Wert) gleiche, nicht zahlenmäßig (arithmetisch) gleiche Stufen sich um den häufigsten Wert symmetrisch zu verteilen pflegen. Nur wo die Streuung im Vergleich zum Mittel klein ist, kann die gewöhnliche Form des Gesetzes als ausreichende Näherung verwendet werden. Auf die Bedeutung dieser Frage gerade für Biologie und Medizin weist ein vor kurzem erschienenes Buch des Freiburger Internisten Rautmann (Die Norm, G. Fischer) hin.

Schließlich sei bemerkt, daß ein Fall symmetrischer Streuung eines Merkmales, und zwar gerade auch eine Resistenz, von Gegenbauer und mir schon 1912 gegeben wurde, indem wir die Schwankungsbreite der HCl-Resistenz aller uns zugänglichen 85 Milzbrandstämme ermittelten, um zu einem empfehlbaren System von Säuregehalt und Desinfektionsdauer zu kommen. Dabei hat sich die für das heutige Thema der Variabilität, wie mir scheint, bedeutungsvolle Tatsache herausgestellt, daß Mittel und Streuungsmaß (σ) dieser Resistenz für alle 85 Stämme dasselbe war, wie es auch schon für einen Stamm aus 40 Versuchen zu berechnen war, hier $M \pm \sigma = 8{,}98 \pm 2{,}40$, dort $9{,}19 \pm 2{,}35$, wobei der mittlere Fehler des Mittelwertes im ersten Falle 0,26, im zweiten 0,37 beträgt. Es ist somit in diesem einen und, soviel mir bekannt, auch einzigen Falle, wo mit den üblichen Methoden der Statistik nach einer Variabilität der Stämme einer Art gesucht wurde, eine solche keineswegs festzustellen, ja bei der immerhin großen Zahl und sehr verschiedenen Herkunft der Stämme von 31 verschiedenen Orten, schon fast auszuschließen gewesen. Voraussetzung ist dabei selbstverständlich gleichartige Kultur der Stämme. Es ist ja gerade bei Milzbrandsporen die — bei jedem Stamme — durch Züchtung auf Weizenagar wesentlich steigerbare Dampfresistenz bekannt. Es scheint immerhin von Bedeutung, solche variationsstatistische Untersuchungen und Vergleiche eines Stammes mit der Gesamtheit der bekannten Stämme fortzuführen, um zu entscheiden, ob und inwieweit es erblich feste Unterschiede der Stämme überhaupt gibt, die ja so vielfach ohne strengen Beweis behauptet werden.

Rhoda Erdmann (Berlin): Die beiden Vorträge haben wohl in der Versammlung das Gefühl einer gewissen Diskrepanz erweckt. Die rein vom morphologischen Standpunkte veranlaßten Ausführungen von Jollos, und die Darbietungen von Gotschlich, die auf Grund des physiologischen Verhaltens der Bakterien gewonnen wurden, können doch durch folgende Betrachtungen in einen besseren Zusammenhang gebracht werden. Jollos, als strenger Weismannianer, betonte besonders, daß nach Durchlaufen des Geschlechtsvorgangs (der Amphimixis), die bei dem von ihm gebrauchten Untersuchungsobjekt, den Paramäcien, in Form der Konjugation sich abspielt, erst entschieden werden kann, ob eine Mutation stattgefunden hat. Nur, wenn die während der vegetativen Periode auftretende Mutation nach dem Geschlechtsvorgang erhalten bleibt, ist sie eine Mutation, und sind wir nach Analogie der Erscheinungen bei Metazoen berechtigt, von Mutation zu sprechen. Diesen strengsten Beweis scheint Jollos für die Mutation bei seinem Paramäcienstamm angewandt zu haben. Nun findet sich in dem ganzen Reich der Bakterien kein gekennzeichneter Geschlechtsvorgang, soviel wir jetzt wissen. Wohl sind einige Anzeichen für die die Kopulation ersetzende Erscheinungen gesichtet, aber bis jetzt sind die zytologischen Daten zu unsicher, um irgendwelche sicheren Schlüsse zu ziehen. Das braucht aber vorläufig den Forscher, der nach Mutationen sucht, nicht abzuschrecken, da das Beispiel des Paramäciums deutlich zeigt, wie leicht Vorgänge, die ursprünglich nicht vermutet worden sind, der Beobachtung entgehen können. So ist erst 1914 in asexuellen Linien von Paramäcien ein Vorgang gefunden worden, der, mit Ausnahme der Zusammenschmelzung der Geschlechtskerne, vollständig alle Kennzeichen hat, die sonst die Konjugation auszeichnet. Der Makronukleus zerbricht und wird von dem Mikronukleus ersetzt. Der Mikronukleus macht Vielteilungen durch, welche den Chromatinbestand verändern. Diesen Vorgang haben die Autoren Endomixis genannt, um den Gegensatz zur Amphimixis zu betonen. Vom morphologischen Standpunkte aus kann dieser Vorgang als Parthenogenese im weiteren Sinne aufgefaßt werden. Dieser Reorganisationsprozeß schiebt sich in der Reihe der asexuellen Teilungen ein und ist bis jetzt bei fast allen Rassen der Paramäcien (aurelia, caudatum) gefunden worden. Wenn das Auffinden eines solchen Prozesses bei dem meist untersuchten Infusor erst 1914 möglich ist, so werden sicher mit Hilfe z. B. des Quarzmikroskops, das von Frosch mit so ausgezeichnetem

Erfolge bei der Suche der ultravisiblen Erreger gebraucht wurde, weitere Aufschlüsse auch über die Chromatinverhältnisse bei Bakterien erwartet werden können. Sicher ist das eine, daß die Bakterien ebenso Lebenskreise haben wie die Protozoen, und daß Vererbungsarbeiten mit Organismen, deren Lebenskreise nicht bekannt sind, unsicher sind. Deshalb ist die einzige echte Mutation bei den nichtzelligen Organismen (Bakterien und Protozoen) bei Paramäcien, die Jollos gelten läßt, noch nicht ganz geklärt. Sie entstand nach einer Reihe von endomiktischen Vorgängen und nach einem amphimiktischen.

E. Gildemeister (Berlin-Dahlem): 1) Demonstration von Photogrammen, aus denen hervorgeht, daß die mikroskopische Betrachtung von makroskopisch scheinbar homogenen Kolonien unter Umständen noch Variationsbildungen aufdecken kann.

2) Bericht über einen Fall von eigenartigen morphologischen Standortsvarietäten bei einem Cholerastamm (Cholera 74). Der Stamm hat früher auf Agar durchaus normale Vibrionenformen gezeigt (s. Baerthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte, Bd. 42), zeigt sie auch heute noch, nur mit dem Unterschiede, daß die Färbbarkeit sich geändert hat (die Enden der Vibrionen sind stärker gefärbt; „Polkörnchen"-Färbung). Dagegen bildet der Stamm auf Dieudonné-Agar und auch auf gewöhnlichem Blutagar neben spärlichen plumpen Vibrionenformen zahlreiche große und kleine Kugelformen, einfache und verzweigte Fäden, alle möglichen Uebergangsformen, kurzum, ein buntes Bild der verschiedensten Formen. Injiziert man den Agarstamm Meerschweinchen intraperitoneal, dann sind im Peritonealexsudat binnen kurzem Vibrionenformen nicht mehr auffindbar, statt dessen sieht man ausschließlich große, durchaus trypanosomenähnliche Gebilde. (Demonstration von Abbildungen.) Rückimpfung von Blutagar und aus dem Peritoneum auf gewöhnlichen Agar ergab wieder durchaus normale morphologische Verhältnisse. Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß es sich hier um morphologische Standortsvarietäten (Modifikationen) handelt. Die beschriebenen Modifikationen waren an dem Stamme über $1^1/_2$ Jahre zu beobachten.

3) Zu den Ausführungen des Herrn Kuhn möchte ich hier noch nicht Stellung nehmen. Ich möchte indes Herrn Kuhn herzlich bitten, die von ihm angewandte Methodik und Technik ausführlich bekannt zu geben, ebenso genauere Angaben über die verwendeten Kulturen, die Beobachtungszeiten usw. zu machen. Seine Niederschrift in dem Würzburger Verhandlungsbericht und seine heutigen Mitteilungen sind so kurz gehalten, daß eine Nachprüfung seiner Angaben mir nicht möglich erscheint.

4) Die Ausführungen des Herrn Philipp geben mir Gelegenheit, kurz über Untersuchungen zu berichten, die in meinem Laboratorium von Herrn Rudolf Bumm in der Richtung ausgeführt worden sind, wie tierpathogene Streptokokken (vom Pferd, Rind, Hund, Kaninchen) sich bei Anwendung der Philippschen Virulenzprobe im Menschenblut verhalten, und ob die genannte Virulenzprobe auch für das Tier sich in Anwendung bringen läßt. Es zeigte sich, daß in Menschenblut nur ein vom Hunde stammender Streptokokkenstamm innerhalb der vorgeschriebenen Zeit zur Vermehrung kam, gelegentlich noch außerdem ein aus einer Phlegmone eines Pferdes isolierter Streptokokkenstamm. Alle übrigen Tierstreptokokken (6 Drusestreptokokken, 1 Eiterstamm vom Pferde, 3 Mastitisstämme, 1 Hunde- und 1 Kaninchenstamm) reagierten negativ. Im Pferdeblut kamen zur Vermehrung pathogene Menschenstreptokokken, Drusestreptokokken, ein Pferdephlegmonenstamm, 1 Hunde- und 1 Kaninchenstreptococcus; negativ reagierten apathogene Menschenstreptokokken, Mastitisstämme. Beim Rinde reagierten positiv einige Drusestämme, der Kaninchen- und der Hundestamm, beim Kalbe noch der Eiterstreptococcus vom Pferde; alles übrige war negativ, also auch die Mastitisstreptokokken. Hammel boten annähernd die gleichen Verhältnisse wie das Rind. Kaninchen reagierten positiv auf pathogene Menschenstreptokokken, Drusestreptokokken, einen Eiterstreptococcus vom Pferde, auf den Kaninchen- und Hundestreptococcus, zum Teil auch auf Mastitisstreptokokken. Hunde reagierten dagegen ausschließlich auf den Hundestreptococcus positiv, auf alle übrigen Streptokokkenstämmen negativ. Irgendwelche Schlußfolgerungen sollen aus diesen Versuchsergebnissen nicht gezogen werden, sie sollen nur eine Anregung geben, weiteres Material zur Beantwortung der gestellten Fragen zu sammeln.

Reichenbach (Göttingen): Ich glaube, wir Mediziner müssen Herrn Jollos außerordentlich dankbar sein, daß er uns eine so klare Definition des Begriffes

der Mutation gegeben hat, und wir können ihm unsern Dank wohl am besten dadurch ausdrücken, daß wir die mißbräuchliche Anwendung des Wortes Mutation in der Bakteriologie möglichst einschränken. Mir persönlich war der Vortrag eine besondere Freude, weil ich wohl einer der ersten gewesen bin, welche die Mutationsnatur der von Neisser am Bacterium coli mutabile beschriebenen Veränderungen bezweifelt haben. Es ist ein eigentümlicher Zufall, daß sowohl in der Botanik wie in der Bakteriologie diejenigen Vorgänge, von denen die Erforschung der Mutation ihren Anfang genommen hat, keine Mutationen gewesen sind.

Was die Variabilität der Resistenz anlangt, so hat ja Herr Reichel sehr schön nachgewiesen, daß die Resistenz verschiedener Milzbrandstämme den Gesetzen folgt, die wir auch sonst bei fluktuierenden Eigenschaften der Organismen finden. Ordnet man eine Anzahl von Milzbrandstämmen nach ihrer Resistenz, so ergibt sich eine typische binomiale Wahrscheinlichkeitskurve. Damit hat aber die Resistenz der einzelnen Individuen in einer Kultur nichts zu tun. Sie folgt ganz anderen Gesetzen und ist auch nicht erblich. Ich habe einmal versucht, für die eigentümliche Tatsache, daß sich die einzelnen Resistenzstufen in einer Kultur nach einer geometrischen Reihe ordnen, eine Erklärung zu geben; ich würde mich sehr freuen, wenn einmal eine kritische Nachprüfung dieser Erklärung erfolgen würde.

Schnitzer (Berlin): Zu den Ausführungen von Herrn Schottmüller möchte ich vor allem bemerken, daß ein einheitlicher Typus des Streptococcus viridans nach morphologischen, kulturellen und biologischen Merkmalen sich nicht aufstellen läßt. Wie sowohl unsere experimentellen Erfahrungen, wie die kürzlich von Freund und Berger mitgeteilten klinisch-bakteriologischen Untersuchungen gezeigt haben, existiert eine Fülle verschiedenartigster Formen innerhalb der anhämolytischen Streptokokkenflora. Die Annahme, daß unter diesen ein bestimmter Typus den Strept. viridans der Endocarditis lenta darstelle, hat sich nicht bestätigt. Bezüglich der Behauptung Schottmüllers, daß Zustandsänderungen der Streptokokken im Verlaufe septischer Erkrankungen beim Menschen nicht vorkommen, verweise ich auf die entgegengesetzten Befunde Philipps, möchte aber auch vor allem die Aufmerksamkeit auf die Beobachtungen lenken, die Morgenroth und Abraham bei der experimentellen chronischen Streptokokkensepsis der Maus gewonnen hatten. Bekanntlich entwickelt sich bei bestimmter Versuchsanordnung — intravenöse Infektion, intraperitoneale Zuführung von Antistreptokokkenserum — ein Krankheitsbild, das überraschende Aehnlichkeit mit einer in Schüben verlaufenden Streptokokkenallgemeininfektion aufweist, wie wir es beim Menschen zu sehen gewohnt sind. Innerhalb des periodischen Ablaufs von bakteriämischem Schub und der darauffolgenden Krise treten bei den mit hämolytischen Streptokokken infizierten Mäusen zuweilen auch die avirulenten anhämolytischen Streptokokken im Blute auf, zweifellos unter dem Einfluß starker aktiver Immunitätsvorgänge. Es sei schon hier darauf hingewiesen, daß derartige Modifikationen pathogener Kokken, insbesondere die mit Virulenzsturz einhergehenden, eine wichtige Rolle im Krankheitsablaufe spielen.

Manteufel (Berlin-Dahlem): Die Ausführungen des Herrn Seligmann geben mir Veranlassung, die Ergebnisse einer Arbeit meines Mitarbeiters Dr. Beger hier kurz zu erwähnen, die sich mit der Theorie von Weil und Felix über den Doppeltypus der Rezeptoren in der Typhus-Coligruppe schwer erklären lassen. Beger ging aus von einem Gärtner-Eselserum, das sich zur Differenzierung von Gärtner- und Paratyphusbazillen mittels des Castellanischen Versuches in früheren Untersuchungen als gut geeignet erwiesen hatte. Wurde dieses Serum mit Typhuskultur abgesättigt, so wurde die Hauptmenge der ursprünglich für die beiden Arten in gleicher Titerhöhe vorhandenen Agglutinine herausgenommen. Es blieb eine sogar mit der Lupe leicht zu übersehende, und nur im Agglutinoskop wahrnehmbare Agglutination für den homologen Gärtner-Stamm übrig, die sich auch dadurch von einer typischen Agglutinationsreihe unterscheidet, daß sie keine deutliche Abstufung erkennen läßt. Bezeichnet man diese Agglutination mit Weil und Felix als kleinflockig, dann muß man sagen, daß die für Typhus und Gärtner gemeinsamen Agglutinine in diesem Eselserum grobflockig, die für Gärtner spezifischen kleinflockig sind. Macht man denselben Absättigungsversuch mit einem durch das gleiche Gärtner-Antigen hergestellten Kaninchenimmunserum, dann findet man, daß bei der Absättigung mit Typhuskultur die Hauptmasse der Agglutinine im Serum als deutlich sichtbare abgestufte Agglutinations-

reihe zurückbleibt. Das gleiche Antigen hat also beim Esel und Kaninchen ganz verschiedene Immunsera erzeugt, und da die Verhältnisse bei einem Typhusserum vom Esel und Kaninchen ganz gleich liegen, erscheint es Beger fraglich, ob man überhaupt aus derartigen Analysen eines Immunserums so weitgehende Schlüsse auf den Rezeptorbau des Antigens machen kann. Jedenfalls lassen sich nach diesen Ergebnissen nicht alle Unklarheiten des Castellanischen Versuchs restlos und zwanglos durch die Theorie von Weil und Felix erklären. Die Arbeit von Beger wird im Centralblatt für Bakteriologie veröffentlicht werden.

Weleminsky (Prag): Während die differenzierter gebauten Organismen in der Konjugation ein Mittel der Variabilität und damit der Anpassung an veränderte äußere Verhältnisse haben, fehlt dieses bei den durch Teilung sich fortpflanzenden Mikroorganismen. Diese müssen daher eine viel größere direkte Anpassungsfähigkeit haben, um nicht über kurz oder lang auszusterben; wir können daher aus dem Mangel einer solchen bei den höheren Organismen nicht auf einen gleichen bei den Bakterien schließen, und wir finden demzufolge auch eine außerordentlich rasche Variabilitätsmöglichkeit gewisser Eigenschaften, wie Farbstoffbildung, Virulenz usw. Andere Eigenschaften wiederum werden mit einer unglaublichen Zähigkeit festgehalten, so insbesondere die Fortpflanzungsart, also hier die Sporenbildung. Das beste Beispiel dafür ist die untergärige Hefe, die seit Einführung des untergärigen Bieres in Deutschland und England seit 300 Jahren ununterbrochen in der Weise fortgepflanzt wird, daß eine Sporenbildung ausgeschlossen ist, und auch von so glänzenden Beobachtern wie Pasteur und anderen nie beobachtet worden ist. Um so größer war das Erstaunen, als nach Einführung der bakteriologischen Methoden es sich vor ungefähr 30 Jahren zeigte, daß die eigentliche Fortpflanzungsart dieser Hefen die Ascosporenbildung sei, die also nach weit mehr als 30000 sog. Generationen sofort wieder aufgenommen wird, sobald die Hefe unter die entsprechenden, resp. eigentlich natürlichen Bedingungen gebracht wird.

Dasselbe konnte ich beim Milzbrand beobachten; wenn man diesen nicht in ruhender Flüssigkeit, sondern in dem von mir seinerzeit angegebenen Apparat in ununterbrochen strömender Bouillon züchtet, so tritt zwar eine mehr als 100fach stärkere Vermehrung auf, aber selbst bei wochenlanger Zirkulation sind keine Sporen zu finden. Läßt man die Flüssigkeit aber dann nur einen Tag stehen, so treten fast in allen Milzbrandbazillen Sporen auf.

Reichel (Wien): Die geistreiche Erklärung, die Herr Reichenbach für das Phänomen der jedenfalls überraschenden halbseitigen Häufigkeitskurve der Resistenz der Keime in einer Kultur gegeben hat, ist mir wohlbekannt. Sie beruht auf den Annahmen einer mit dem Alter fallenden Resistenz und einer atypischen Altersgliederung solcher Kulturpopulationen von Mikroorganismen. Das Zustandekommen dieses — auch an sich nicht bewiesenen — Altersaufbaues wird weiter durch die Annahme einer mit dem Zeitlauf konstant bleibenden verhältnismäßigen Ausschaltung von Keimen von der weiteren Teilung erklärt. Diese Annahmen wären an sich gewiß prüfbar und sehr prüfenswert, doch dürfte es leichter sein, die vorhin angedeutete andere Erklärung zu prüfen, die den Fall vielleicht eben doch noch als eine verkappte symmetrische Zufallsstreuung eines Merkmals in einer Population betrachten läßt.

Bien (Leiden) berichtet über das Zurückschlagen der O-Form zur H-Form. Das Zurückschlagen geht von einem Punkt der O-Form aus, dann überwuchert diese neuentstandene H-Form die O-Form, so daß nicht eine Umwandlung, sondern eine Ueberwucherung durch das neuentstandene Bakterium stattfindet. Ein Beispiel dazu, daß vielleicht bei anderen Bakterien die Variationen auch so entstehen, d. h. daß die neue Form durch ihre viel größere Vermehrungsfähigkeit (H) die alte Form (O) überwuchert.

Gotschlich (Schlußwort): Zu den Bemerkungen des Herrn Reichel betreffend die Absterbekurve der Bakterien bei einem Desinfektionsvorgang in ihrem Verhältnis zur allgemeinen Variationskurve möchte ich mich dahin äußern, daß ich nicht einen Widerspruch zwischen diesen beiden graphischen Darstellungen behaupten, sondern nur auf ihren Unterschied hinweisen wollte. Wo die

Variationen lediglich zufälliger Natur sind, d. h. nur den jederzeit vorhandenen, unzähligen gegensätzlich wirkenden, regellosen Störungswirkungen folgen, da lassen sie sich durch die der Wahrscheinlichkeitsrechnung entsprechende binomiale Variationskurve darstellen; wo aber eine bestimmte Gesetzmäßigkeit eingreift — wie das offenbar beim Ablauf des Desinfektionsvorganges der Fall ist — da tritt ein anderer, von Fall zu Fall durch den Charakter dieser Gesetzmäßigkeit bestimmter Kurventypus auf.

Was die Erfahrungen des Herrn Schottmüller anlangt, der bei menschlichen Infektionen niemals eine Umzüchtung von Streptokokken beobachten konnte, so gilt es, diese Tatsache mit den ebenso unbestreitbaren Tatsachen der gelungenen Umzüchtung im Tierversuch in Einklang zu bringen. Wahrscheinlich liegt die Erklärung dieses scheinbaren Widerspruchs darin, daß diejenigen Viridans-Stämme, die imstande sind, beim Menschen Krankheitserscheinungen auszulösen, in ihren Eigenschaften gefestigt sein müssen und daher nicht so leicht dem Variieren unterliegen. Es ist bemerkenswert, daß die aus der Maus umgezüchteten vergrünenden Streptokokken unter sich sehr ungleich, nämlich mehr oder weniger in ihren neuen Eigenschaften gefestigt und zum Teil derartig geschädigt sind, daß ihre Weiterführung in künstlicher Kultur kaum oder überhaupt nicht mehr gelingt.

Frl. Erdmann hat die Diskrepanz zwischen meinem Referat und dem Referat des Herrn Jollos bezüglich der Frage der Vererbung der Varianten bei Bakterien betont. Ich glaube, daß unsere Anschauungen gar nicht so unvereinbar sind. Herr Jollos lehnt allerdings den Begriff der Mutation für die Bakterien ab, weil mangels unserer Kenntnisse von geschlechtlichen Vorgängen bei diesen niedersten Lebewesen eine sichere Entscheidung über die Vererbbarkeit vorläufig nicht möglich ist, während ich auch für die Bakterien diesen Begriff als Grenzfall beibehalten wissen möchte.

Zum Schluß möchte ich noch ganz kurz auf die vielumstrittene Frage eingehen, inwieweit äußere Einwirkungen einerseits oder innere Anlagen andererseits als ursächliche Momente für das Variieren der Mikroorganismen in Betracht kommen. Selbstverständlich müssen beide Momente zusammenwirken, wie wir uns ja überhaupt in den Naturwissenschaften dessen bewußt sind, daß eine Ursache nur innerhalb gewisser Bedingungen ihre Wirkung äußert. Ich will auf den Streit zwischen kausaler und konditionistischer Betrachtungsweise hier nicht eingehen, der sich unter der höheren Einheit der funktionalen Anschauung aufhebt. Ich lege aber Wert darauf, festzustellen, daß wir für beide Fälle der Entstehung der Varianten, sowohl für die vorherrschende Bedeutung äußerer Faktoren wie für das scheinbar spontane Variieren von innen heraus, anschauliche strukturchemische Vorstellungen zur Erklärung heranziehen können: für das Variieren unter dem unmittelbaren Einfluß äußerer Einwirkungen die Tatsachen einer durch chemische Addition oder Substitution erworbenen neuen konstitutiven Spezifität, — für das scheinbar spontane Umschlagen einer Variante in die andere meine Anschauung von der tautomeren Struktur des lebenden Plasmas.

V. Jollos (Schlußwort): Die zahlreichen, im Laufe der Diskussion mitgeteilten Beobachtungen und Anschauungen können von mir hier natürlich nur summarisch behandelt werden. So manche von ihnen erfüllen, wie jeder, der sich über die Grundlagen der Erblichkeitsforschung auf diesem Gebiete Klarheit verschafft hat, ohne weiteres erkennen wird, weder hinsichtlich des verwandten Ausgangsmaterials noch der Konstanz der Kulturbedingungen, die für eine vererbungstheoretische Behandlung unerläßlichen Voraussetzungen. In anderen Fällen scheint es sich um ein Hineinziehen von entwicklungsphysiologischen Fragen zu handeln, die mit der Genetik als solcher zunächst wenig zu tun haben. Din Grundlagen der von mir in meinem Referate entwickelten allgemeinen Anschauungen dürften aber wohl in keinem Falle irgendwie berührt worden sein. Denn selbstverständlich können wir bei unseren allgemeinen Vorstellungen nur auf sicheren Tatsachen, nicht aber auf hypothetischen Möglichkeiten und Phantasien aufbauen. Dies gilt für die Bakterien so gut wie für die Infusorien. Mag eine künftige Forschung uns auch noch manche ungeahnten Aufschlüsse über Bau und Entwicklung der Bakterien bringen, heute wissen wir bei ihnen jedenfalls weder von Sexualität oder wirklichen „Lebenskreisen“ noch von Chromosomen oder dergleichen Kernstrukturen auch nur das Geringste!

Auf einen Punkt möchte ich jedoch, um keine Mißverständnisse aufkommen zu lassen, hier noch etwas eingehen. Aus den Einwänden von Herrn Schottmüller, gegen die im Laufe der Diskussion mitgeteilten Umstimmungen von

Streptokokken klang eine gewisse Besorgnis und Unruhe heraus, daß durch die Variabilitätsforschung eine Unsicherheit, eine Erschütterung der praktisch bewährten bakteriologisch-diagnostischen Methoden hervorgerufen werden könnte. Eine Besorgnis, die sicherlich heute von manchem Kliniker wie Bakteriologen geteilt wird, aber gerade gegenüber den von mir vertretenen Anschauungen kaum berechtigt erscheint. Denn „im Gegensatz zu manchen Forschern, die heute auf Grund der zahlreichen, irrtümlich als Mutationen gedeuteten Dauermodifikationen auf Schritt und Tritt Mutationen finden und nur alte Kulturen auszusäen brauchen, um derartige „erbliche" Umstimmungen zu erzielen, müssen wir gerade die relativ große Konstanz der genotypischen Konstitution auch der Bakterien betonen. Unser Standpunkt entspricht damit durchaus wieder den Anschauungen der „klassischen" Bakteriologie und findet ja auch in den praktisch-medizinischen Erfahrungen seine Bestätigung. Denn handelte es sich bei den Veränderungen um wirklich genotypische Umstimmungen und nicht nur um stets wieder abklingende Dauermodifikationen, wie schnell hätte dann der stolze Bau der bakteriologischen Diagnostik in sich zusammensinken müssen! Denn wie wäre besonders bei unseren, rein biologisch betrachtet, noch recht unvollkommenen Kenntnissen und Hilfsmitteln auf diesem Gebiete eine sichere Identifizierung möglich, wenn so leicht und schnell immer neue, erblich verschiedene Formen entständen?" (Jollos 1914.) Wir aber haben gesehen, daß alle festgestellten Veränderungen im wesentlichen doch nur Schwankungen um einen bestimmten festen Gleichgewichtszustand darstellen, der durch die relativ konstante genotypische Grundlage bedingt ist und über kurz oder lang sich immer wieder einstellt. Gewiß, manche der bisher aufgestellten Rassen-, Art- und vielleicht sogar Gattungsgrenzen werden wohl aufgehoben und anders abgesteckt werden müssen. Doch das sind Aufgaben spezieller bakteriologischer Forschung. Mag sich aber in dieser Hinsicht auch noch so viel auf Grund der noch zu gewinnenden genaueren Kenntnisse der Variabilitätsbreite der einzelnen Formen ändern, niemals kann die Bakteriologie dabei wieder in das Chaos zurückgeworfen werden, aus dem sie durch das Werk Robert Kochs herausgeführt worden ist.

Nachmittags-Sitzung.

Vorsitzender: Hayo Bruns (Gelsenkirchen).

1. **Vortrag.** Walter (Barcelona):

Die Resultate der Untersuchungen Ferráns über Tuberkulose.

Als Robert Koch im Jahre 1882 den Erreger der Tuberkulose entdeckte, gab er ihm den Charakter eines obligatorischen Bazillus. Rein theoretische Ueberlegungen hielten Ferrán davon ab, die Ansichten Kochs über den obligatorischen Charakter seines Bazillus zu teilen. Er nahm an, daß die Eigenschaften des Tuberkelbazillus, durch die wir ihn von den anderen Bakterienarten unterscheiden, nur „die Spuren sind, die ein lebendes Milieu gewissen, nicht säurefesten Bakterien während ihres parasitären Lebens aufgedrückt hat".

Auf Grund seiner 30jährigen ununterbrochenen Beobachtungen stellte Ferrán folgende 5 Grundsätze auf:

1) Der säurefeste Kochsche Tuberkelbazillus verliert nach wiederholten Reihenkulturen die Eigentümlichkeit, sich agglutiniert zu vermehren, ohne seine Säurefestigkeit zu verlieren.

2) Dieser säurefeste Bazillus trübt Bouillon auf Schütteln gleichmäßig.

3) Er wird durch Serum tuberkulöser Individuen agglutiniert.

4) Fährt man fort, diesen neuen Bazillus in Reihen zu kultivieren, so geht dabei aus ihm eine neue Gattung hervor, die nicht mehr säurefest ist und deren Haupteigenschaften mit denen der Bakterien der Coli-Typhusgruppe übereinstimmen.

5) Diese nicht säurefeste Gattung, die Bouillon spontan und gleichmäßig trübt, verursacht, Meerschweinchen in Reinkultur injiziert, bei diesen eine Tuberkulose, die sich jedoch von der klassischen

experimentell durch den Kochschen säurefesten Bazillus hervorgerufenen Tuberkulose, was ihren Verlauf anbelangt, unterscheidet.

Mehrere Monate nach Veröffentlichung dieser Arbeit Ferráns wurden die 3 ersten Sätze von Dubard, Arloing und Courmont, 6 Jahre später der 4. Satz von Auclair und 1914 alle 5 Sätze von Santini bestätigt. In den letzten Jahren mehren sich die Nachrichten über Beobachtungen, die denen Ferráns entsprechen. Ich erinnere an die Arbeiten Vaudremers, Howarts-Paris, Mayers-New-York, Garzias-Philadelphia, Klepzows-Kasan.

Als Ferrán seine ersten Untersuchungsergebnisse veröffentlichte, schrieb er die beobachteten Veränderungen den Bedingungen zu, unter denen er kultivierte. Es hat sich aber in der Folgezeit gezeigt, daß das nicht richtig war. Weder das Schütteln der Kulturen, was Arloing und Courmont angaben, noch die Züchtung in nicht glyzerinhaltiger Bouillon, geben irgendeiner dauernd emulsionablen Gattung das Leben. Diese Erscheinungen treten völlig unabhängig auf von allem, was unternommen wird, sie hervorzurufen.

Die Eigenschaften dieser neuen Gattungen sind außerordentlich permanent, solange wir sie in einem Milieu kultivieren, das dem entspricht, aus dem sie hervorgegangen sind. Nur wenn sie in lebendes, mit Tbc infizierbares Gewebe gebracht werden, können sie, wie die Versuche Ferráns ergaben, die Eigenschaften wiedergewinnen, die sie bei ihrer Vermehrung in Bouillon verloren haben. Diese letztere Tatsache ist nicht ganz leicht zu beobachten, da die Umwandlungen nur sehr selten sind, und nur dann sichtbare Spuren zurücklassen, wenn sie Tuberkulose hervorrufen.

Die durch Injektion von diesen nicht säurefesten Bakterien experimentell hervorgerufene Tuberkulose entwickelt sich in einer Weise, die sich in jedem Punkte mit der natürlichen Tuberkulose deckt. Es bildet sich an der Injektionsstelle ein entzündliches Oedem, das gewöhnlich schnell und ohne Spuren zu hinterlassen, verschwindet, wenn die injizierten Bakterien nicht sehr virulent sind. Die Inguinaldrüsen reagieren sofort, aber nur flüchtig und kaum sichtbar, es bilden sich weder an der Injektionsstelle noch in den Leistendrüsen Eiterherde. Die Dauer des Lebens dieser Meerschweinchen ist sehr verschieden. Entweder werden sie rasch wieder gesund — und das ist bei der Mehrzahl der Fall — oder sie gehen an den Folgen gewöhnlicher Entzündungserscheinungen ein. Die Impfung kann also nach 2 Seiten hin mißglücken: sei es, daß die Meerschweinchen wieder gesund werden, sei es, daß sie an den Folgen gewöhnlicher Entzündungserscheinungen eingehen, ohne daß sich Tuberkel bilden.

Wenn sich Tuberkel bilden, sind sie wenig zahlreich, vor allem, wenn die Tiere nur kurze Zeit am Leben bleiben. Man gewinnt bei der Autopsie den Eindruck, daß die tuberkulogene Phase dieses ganzen entzündlichen Prozesses mit der Bildung eines einzigen Tuberkels beginnt, und daß die Tuberkel, die in der Folgezeit entstehen, durch säurefeste Kochsche Bazillen hervorgerufen werden, die durch Vermehrung des ersten, durch Umwandlung entstandenen sf. Bazillus gebildet wurden.

Nehmen wir tuberkulöses Virus von einem auf diese Weise entstandenen Tuberkel und impfen es einem 2. Meerschweinchen, so erhalten wir ausnahmslos die klassische experimentelle Tuberkulose.

Der Kreis der Umwandlungen des in Bouillon in Reihen und nach-

her in mit Tuberkulose infizierbaren Organismen kultivierten sf. K. B. ist somit geschlossen: In Bouillon kultiviert, verliert der sf. K. B. zuerst die Eigentümlichkeit, sich agglutiniert zu vermehren. In diesem Zustand nennt ihn Ferrán Delta, dann seine Säurefestigkeit, und damit ist er wieder auf dem Punkt angelangt, von dem er, bevor er in mit Tuberkulose infizierbaren Organismen lebte, ausging. In diesem Zustand bezeichnet ihn Ferrán mit Epsilon.

Die Tatsache, daß nicht säurefeste Bakterien, die in vitro vom K. Tuberkelbazillus stammen, fähig sind, Tuberkulose zu erzeugen, drängte Ferrán die Vermutung auf, daß es auch noch andere n. sf. Bakterien geben würde, die sich, Meerschweinchen injiziert, ebenso verhalten würden. Er schreibt: „Wir haben solche Bakterien gesucht, und wir haben sie gefunden. Wir können mit Recht versichern, daß es in der Natur zahlreiche Bakterien gibt, die Tuberkulose erzeugen, da sie säurefesten Kochschen Bazillen das Leben geben."

Alle diese nicht säurefesten Bakterien, die die Fähigkeit besitzen, sich in sf. K. B. umzuwandeln, faßt Ferrán unter dem Namen „Alpha" zusammen. Der Name „Alpha" bezeichnet also nicht eine einzige Bakterienart, er umfaßt verschiedene Rassen, die wohl alle den grundlegenden gemeinsamen Charakterzug haben, sobald sie sich in sf. K. B. umgewandelt haben, Tbc zu erzeugen, die sich aber in einigen sekundären Eigenschaften unterscheiden.

Die regressiven Umwandlungen in vitro geben uns eine Vorstellung von den aszendierenden Umwandlungen, die den Zwischenraum zwischen den Alpha- und Gammabakterien, wie Ferrán die Kochschen Tuberkelbazillen nennt, ausfüllen. Zwischen diese beiden Arten stellt Ferrán die „Betabakterien", die den Deltabakterien in der deszendierenden Reihe analog sind und sich vor allem durch ihre schwere Kultivierbarkeit auszeichnen. Zu diesen Betabakterien rechnete Ferrán anfangs auch die Muchschen Granula. Es stellte sich jedoch heraus, daß diese reversibel sind. Wie die Versuche Ferráns und später auch die Fontes ergaben, erhält man regelmäßig bei Injektion von Muchschen Granula Kochsche sf. B. und bei Injektion von Kochschen Bazillen Muchsche Granula.

Ich darf hier nochmals betonen, daß alle diese Umwandlungen, und zwar sowohl die, die wir in vitro beobachten können, als auch die, die in vivo stattfinden, nur vereinzelt vor sich gehen, d. h. nicht alle Bakterien, die wir injizieren, wandeln sich um; unter den Millionen von Kochschen Tuberkelbazillen, die wir in einer Kultur haben, sind die Stäbchen, die den neuen Delta- und Epsilonbakterien das Leben geben, selten, und es bedarf oft einer nicht geringen Geduld und Ausdauer, bis wir bei Injektionen von Alphabakterien Tuberkulose erhalten.

Welche Folgen haben nun diese Entdeckungen Ferráns für die Therapie?

Ferrán unterscheidet in dem Krankheitsbild der Tuberkulose 2 Etappen, die wohl voneinander zu trennen sind, da sie durch verschiedene Bakterientoxine hervorgerufen werden: das Stadium der prätuberkulösen und das der eigentlichen tuberkulösen Entzündung.

Die Infektion beginnt unter der Wirkung der n. sf. Alphabakterien, die gewöhnliche Entzündungserscheinungen, d. h. Entzündungen ohne Tuberkel hervorrufen. Wenn die entzündungserregende Wirkung der Alphabakterien sich langsam ausbreitet, verteidigt sich der Organis-

mus und erhält einen gewissen Grad von Widerstandsfähigkeit gegen die Toxine der Alphabakterien, die nun ihrerseits wieder Schutzmaßregeln gegen den sich verteidigenden Organismus treffen; sie wandeln sich in Beta- und Gammabakterien um. Nach Ferrán sind also die verschiedenen Umwandlungen des Tbc-Bazillus nichts anderes als die Folge einer Immunisierung des Bazillus gegen die ihm vom Körper entgegengestellten Schutzmaßnahmen, eine Immunität, die er, sobald er in Bouillon kultiviert wird, d. h. sobald ihm keinerlei Gefahren mehr drohen, verliert. Sobald sich der Alphabazillus in den Gammabazillus, wie Ferrán den Kochschen Tbc-Bazillus nennt, umgewandelt hat, beginnt die 2. Phase: Unter der Wirkung der toxischen Lipoide der Gammabakterien entstehen Tuberkel.

Die erste Etappe der tuberkulösen Infektion, d. h.. die Periode der Entzündung ohne Tuberkel, kann allein ohne nachfolgende zweite Periode auftreten, denn nicht alle die nicht säurefesten Bakterien, die die erste Etappe verursachten, geben unbedingt virulenten Kochschen Bazillen das Leben.

Wenn nun die Tuberkulose, die nicht unbedingt notwendige und trotz ihrer Häufigkeit relativ seltene Folge von infektiösen Prozessen ist, die hauptsächlich in der Kindheit stattfinden, wenn diese infektiösen Prozesse durch verschiedene Rassen von Bakterien, die nicht säurefest und von mehr oder weniger fäkaler Herkunft sind, verursacht werden, dann genügt es, wenn wir uns gegen diese Prozesse immunisieren, um indirekt gegen die Tuberkulose geschützt zu sein, ist sie doch nur die 2. Etappe dieser Prozesse.

Zum Zweck dieser Immunisation stellte Ferrán die von ihm „Antialpha" genannte Vakzine her. Diese Vakzine ist eine ausschließlich in Bouillon gewonnene Kultur aller bis jetzt bekannter Rassen von Alpha- und Epsilonbakterien, deren tuberkulogene Eigenschaften durch den Versuch bestätigt worden sind.

Gleich bei den ersten Versuchen der Immunisierung gegen Tuberkulose, die dank des Rufes, den Ferrán seit der Choleraepidemie im Jahre 1885 in Spanien genießt, bei der er die Choleravakzine einführte, an der Riviere del Jucar in außerordentlich großem Umfang vorgenommen werden konnten — es wurden damals über 34000 Injektionen gegeben — wurden Besserungen und Heilungen bei Krankheiten beobachtet, die mit der Tuberkulose nicht den geringsten Zusammenhang zu haben schienen. Die therapeutische Wirksamkeit der Vakzine breitete sich sehr rasch über eine große Anzahl von Krankheiten aus. Ponndorf und Danys, Paris, mit seiner aus verschiedenen Bact. fäkaler Herkunft hergestellten Vakzine, berichten über Erfolge, die denen Ferráns analog sind, was wohl auf der nahen Verwandtschaft, der dabei verwendeten Bakterien beruhen dürfte. Castellvi, der in seiner Madrider Klinik und seinen beiden Privatkliniken Versuche anstellte, berichtet über günstige Resultate, außer bei Tuberkulose, u. a. bei Bronchitis, Asthma bronchiale, akutem Gelenk-Rheumatismus, und zwar bei letzterem, wie er schreibt, mit einer Schnelligkeit, wie sie bei Salicylbehandlung nicht erreicht wurde, und bei Arthritis gonorrh. Ganz auffallend waren die Erfolge bei Keuchhusten. Gonzalez veröffentlichte eine Arbeit über 269 mit der Vakzine behandelte Fälle von Keuchhusten. Von diesen wurden 75, von denen keiner länger als 4 Wochen krank war, in 8—14 Tagen geheilt. 69 von Gonzalez als zweifelhaft bezeichnete Fälle waren bei Beginn der Behandlung

schon länger als 4 Wochen krank, und es war deshalb nicht mit Sicherheit zu sagen, ob die Heilung der Vakzine zuzuschreiben ist. Jedoch war bei sämtlichen 69 Fällen auf die Injektion hin eine deutliche Besserung zu beobachten. 50 Fälle blieben völlig unbeeinflußt, und die restlichen 40 suchten nach 1—2 Injektionen die Klinik nicht mehr auf, sodaß über deren Schicksal nichts mehr zu erfahren war.

Eine sehr interessante Statistik über 687 mit der Vakzine behandelte Kinder im Hospital de los niños exp. in Buenos-Aires möchte ich Ihnen auf Wunsch Ferráns, wenn Sie es mir gestatten, trotz der vorgeschrittenen Zeit noch vorführen:

Die Vakzine wird heute in Spanien und vor allem im lateinischen Amerika sehr viel verwandt. Die Mitteilungen über die Erfahrungen, die mit ihr gemacht wurden, ebenso wie die bis jetzt veröffentlichten Arbeiten bedeuten eine Bestätigung aus der Praxis der Theorie Ferráns.

Tabelle I.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	293	1471	19,93
1918	229	1356	16,88
1919	312	1283	24,31
1920	317	1137	27.00
1921	268	1123	23,86
Geimpft:			
(1920)	88	687	12,80

Tabelle II.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1920 (einschl.d.Geimpften)	317	1137	27,00
Geimpft:			
mit $^1/_3 - ^1/_2$ ccm	25	102	24,50
„ $^2/_3 - 1$ „	25	110	22,72
„ 2 ccm	12	98	12,24
„ 3 „	24	377	6,36

Tab. 1 und 2. Vergleich der allgemeinen Sterblichkeit in einem Zeitraum von 5 Jahren mit derjenigen der mit $^1/_2$, 1, 2 oder 3 ccm geimpften Kinder. Es muß bemerkt werden, daß in den Jahren 1919, 1920, 1921 die behandelten Kinder von den Epidemien der Grippe, Masern und Keuchhusten ergriffen wurden, die in diesen Jahren viele Opfer forderten, wodurch der Prozentsatz der Sterblichkeit erheblich erhöht wurde im Vergleich zu den Jahren 1917/18.

Tabelle III.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	64	1471	4,35
1918	71	1356	5,23
1919	89	1283	6,93
1920	79	1137	6,94
1921	78	1123	6,94
Geimpft:			
(1920)	16	687	2,32

Tabelle IV.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1920 (einschl. Geimpfter)	79	1137	6,94
Geimpft:			
mit $^1/_8 - ^1/_2$ ccm	3	102	2,94
„ 1 ccm	5	110	4,54
„ 2 „	2	98	2,04
„ 3 „	6	377	1,59

Tabellen 3 und 4 umfassen alle Krankheiten, die mit dem Gastro-Intestinaltraktus zusammenhängen. Es ist keinerlei Auswahl in Bezug auf Ernährungszustand getroffen worden.

Tabelle V.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	73	1471	4,96
1918	57	1356	4.20
1919	92	1283	7,17
1920	124	1137	10,90
1921	106	1123	9,43
Geimpft:			
(1920)	43	687	6,25

Tabelle VI.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1920 (einschl. Geimpfter)	124	1137	10,90
1920 (ausschl. Geimpfter)	81	450	18,00
Geimpft:			
mit $^1/_8 - ^1/_2$ ccm	16	102	15,68
„ 1 ccm	10	110	9,09
„ 2 „	5	98	5,10
„ 3 „	12	377	3,18

Tabellen 5 und 6 umfassen alle Erkrankungen der Lungen. In der Tabelle 6 ist deutlich zu beobachten, wie die Sterblichkeit in dem Maße sinkt, in dem die Injektionsdosis erhöht wurde.

Tabelle VII.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	70	1471	4,75
1918	44	1356	3,24
1919	40	1283	3,11
1920	43	1137	3,78
1921	29	1122	2,58
Geimpft:			
(1920)	13	687	1,89

Tabelle VIII.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1920 (einschl. Geimpfter)	43	1137	3,78
Geimpft:			
mit $^1/_3 - ^1/_2$ ccm	4	102	3,82
„ 1 ccm	3	110	2,72
„ 2 „	2	98	2,04
„ 3 „	4	377	1,06

Tabellen 7 und 8 stellen die Sterblichkeit infolge tuberkulöser Lungenleiden dar. Die Tabelle Nr. 8 ist sehr instruktiv- Es muß beachtet werden, daß die mit 3 ccm geimpften Kinder vor Ablauf von 4 Monaten nach der Impfung gestorben sind, man muß sie also schon als krank vor der Impfung betrachten, auf Grund des sehr kurzen Zeitraums zwischen der Impfung und dem Tod infolge Tbc.

Tabelle IX.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	125	671	18,62
1918	92	635	14,42
1919	110	633	17,37
1920	115	564	20,39
1921	65	570	11,41
Geimpft:			
(1921)	14	342	4,09

Tabelle X.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1921 (einschl. Geimpfter)	65	570	11,41
1921 (ausschl. Geimpfter)	51	228	22,36
Geimpft:			
mit 3 ccm (1921)	14	342	4,09

Aus den Tabellen Nr. 9 und 10 ist die allgemeine Sterblichkeitsziffer zu ersehen.

Die auffallend geringe Sterblichkeitsziffer im Jahre 1921 im Vergleich mit den vorhergehenden Jahren ist darauf zurückzuführen, daß die geimpften Kinder miteingerechnet sind, was daraus hervorgeht, daß die Sterblichkeit, wie Tabelle 12 zeigt, ohne die geimpften Kinder etwa der des Vorjahres entspricht. Zu beobachten ist, daß in den Jahren 1917 und 1918 die Ziffer nicht durch die obengenannten Epidemien hinaufgetrieben wurde.

Tabelle XI.

Jahr	Gestorben	Behandelt	%
1917	45	671	6,70
1918	23	635	3,62
1919	19	633	3,00
1920	25	564	4,43
1921 (ohne Impfung)	10	228	4,38
1921 (mit Impfung)	10	570	1,75
Geimpft:			
mit 3 ccm (1921)	—	342	—

Tabelle 11 zeigt die Sterblichkeit an Tuberkulose. Einschließlich der Geimpften geht die Sterblichkeitsziffer von 4,38 auf 1,75 Proz. herunter. Unter den mit 3 ccm Geimpften ist kein Todesfall an Tuberkulose.

---

2. Vortrag. R. Bieling (Frankfurt a. M.):

Untersuchungen über das Wesen des Tuberkulins.

Tuberkuline sind Substanzen, welche durch bestimmte biologische und pharmakologische Wirkungen beim tuberkulös infizierten Individuum charakterisiert sind.

Die Tuberkulin-Präparate aber, welche man gewöhnlich benutzt, stellen nicht einheitliche Körper dar, sondern Mischungen aus verschiedenen Substanzen, darunter wohl auch unwirksame Stoffe.

Es ist daher vielfach versucht worden, durch Aufspaltung dieser Mischungen zu einer Analyse des Gemisches fortzuschreiten. Dabei wurde nun eine ganze Reihe verschiedener chemischer Substanzen aus dem Alt-Tuberkulin oder den Tuberkelbazillenleibern dargestellt, welche — und das ist das Sonderbare — chemisch weitgehend voneinander differierten, darin aber miteinander übereinstimmten, daß sie die charakteristische Tuberkulinwirkung am Tuberkulösen zeigten.

Aus diesem eigenartigen Befunde hat man geschlossen, daß es verschiedene Tuberkuline gibt, d. h. also chemisch differente Stoffe, welche sämtlich die Tuberkulinwirkung zeigen. Besteht diese Auffassung zu Recht, so gibt es überhaupt kein einheitliches Tuberkulin als solches, die Tuberkulinwirkung könnte nicht auf chemische Struktureigentümlichkeiten zurückgeführt werden, und man hat sogar die Vermutung ausgesprochen, daß das Tuberkulin nur ein physikalischer Zustand wäre. (Deycke).

Es wäre aber andererseits auch möglich, daß alle diese verschiedenen Substanzen nur deshalb die gleiche Tuberkulinwirkung zeigten, weil sie eine hochwirksame Substanz in kleinsten Beimengungen enthalten, eben das Tuberkulin. In diesem Falle stellten die verschiedenartigen aus Tuberkulinen isolierten Substanzen nur mehr oder minder neutrale Träger einer und derselben stark wirksamen Substanz, nämlich des Tuberkulins, dar. Soweit unter einzelnen Tuberkulinpräparaten gewisse Unterschiede in der Tuberkulinwirkung zu beobachten sind, könnten diese auf die Wirkung der verschiedenen Beimengungen zurückgeführt werden.

Dies war die Arbeitshypothese, von der ausgegangen wurde bei Untersuchungen über das wirksame Prinzip des Tuberkulins. Aber wenn sich die Theorie bei diesen Untersuchungen auch bewährt hat und zu Ergebnissen führte, so soll doch ein entscheidendes Urteil über ihre Geltung noch nicht abgegeben werden.

Auf die Ergebnisse der zahlreichen chemischen Untersuchungen sei hier nicht eingegangen. Sie wurden ausgeführt zuerst von C. L. Lautenschläger und dann von S. Edlbacher. Einige rein biologische Ergebnisse sind es vielmehr, die hier besprochen werden sollen.

Gegen die Auffassung, daß es eine ganze Fülle chemisch differenter Tuberkuline gebe, sträubt sich von vornherein das chemische und pharmakologische Empfinden. Es widerspricht aller Erfahrung,

daß chemisch weitgehend unterschiedene Substanzen die gleiche biologische Wirkung haben sollen. Im Laufe der Untersuchungen wiederholte sich dann immer wieder die Beobachtung, daß die Tuberkulinwirkung von den verschiedenen Substanzen durch eine Reihe physikalischer Einwirkungen abgetrennt werden kann; je nach Art und Beschaffenheit des Ausgangsmaterials können Dialyse und Absorption mehr oder minder große Mengen wirksamer Substanz abspalten. Es gelingt dabei, die Tuberkulinwirkung auf früher indifferente Körper zu übertragen, wie beispielsweise Kieselsäure, Kaolin, Aluminiumhydroxyd u. dgl., und man kann sie dann auch wieder aus solchen Bindungen durch geeignete chemische Einwirkungen herausholen. Ganz allgemein aber beobachtet man, daß oberflächenaktive Substanzen die Tuberkulinwirkung an sich reißen können und daß dann, wenn man auf irgendeine Weise Fällungen in einer tuberkulinhaltigen Flüssigkeit hervorruft, in den allermeisten Fällen von den ausfallenden Substanzen, und zwar von Substanzen allerverschiedenster Art, Tuberkulin mitgerissen wird. Die chemische Natur des ausfallenden Stoffes sagt also nichts über die chemische Natur des anhaftenden Tuberkulins aus. Dies sind alles Beobachtungen, welche mit größter Wahrscheinlichkeit darauf hinweisen, daß das eigentliche Tuberkulin im strengeren Sinne ein sehr leicht absorbierbarer Körper ist, welcher die Eigenschaft besitzt, den verschiedensten Substanzen anzuhaften und von ihnen sich mitreißen zu lassen.

Schließlich zeigte sich dann, wenn man eine chemisch weitgehend gereinigte Substanz mit Tuberkulinwirkung mehrfach darstellt, daß dieselbe Substanz trotz gleicher chemischer Struktur ganz verschieden starke Tuberkulinwirkung haben kann. Das ist unvereinbar mit der Auffassung, daß die betreffende chemische Substanz selbst das Tuberkulin wäre, denn ein biologisch wirksames Chemikal, beispielsweise Morphin, wirkt stets gleich stark, einerlei, auf welche Weise es isoliert wurde. Aber wenn derselbe aus Tuberkelbazillen dargestellte chemische Körper das eine Mal 10mal stärkere Tuberkulinreaktion gibt als das andere Mal, so muß angenommen werden, daß er nicht selbst das Tuberkulin ist, sondern nur der Träger des Tuberkulins.

Nachdem dies erkannt war, konnte es nicht die Aufgabe dieser Untersuchungen sein, nur immer neue Tuberkulinspaltprodukte und Partigene zu isolieren, sondern vielmehr die allen Tuberkulinen gemeinsame wirksame Substanz zu charakterisieren.

Dieses Ziel ist nun heute keineswegs erreicht, dagegen liegen eine Reihe von Befunden vor, welche die chemischen Grenzen, innerhalb derer wir das Tuberkulin zu suchen haben werden, bereits sehr eng gezogen haben. So mag hier eine hochwirksame Tuberkulinsubstanz demonstriert werden, welche sich in alkoholischer Lösung hält und ohne weiteres dialysabel ist. Diese Substanz enthält keineswegs Partikel von organisiertem Bakterienprotoplasma oder überhaupt noch Eiweiß, keine einzige Eiweißprobe ist mehr positiv. Albumosen und Peptone sind nicht vorhanden, die Biuretprobe ist negativ, selbst die Ninhydrinreaktion, welche noch einfachere Eiweißspaltprodukte anzeigt, ist negativ.

Im übrigen führen Angaben über die chemische Struktur dieser oder einer der untersuchten, starke Tuberulinwirkung gebenden Substanz nicht weiter; denn wesentlich an ihnen ist für uns nicht das, was sie sind, sondern das, was sie nicht sind, weil auch sie noch keineswegs

frei von Trägersubstanz sind. Biologisch ist aber hier sicherlich bereits ein erheblicher Grad von Reinheit erzielt worden, denn eine Fülle von unspezifischen biologischen Reaktionen, welche die Tuberkuline des Handels zeigen, sind hier bereits ausgeschaltet. Diese biologischen Arbeitsmethoden werden mit den Methoden der Pharmakologie durchgeführt, wie sie seit den Untersuchungen von Friedberger und Kumagai, sowie von Massini und Dale auch in die Mikrobiologie eingeführt wurden.

Durchströmt man das Gefäßsystem eines überlebenden Kaltblüters oder auch eines frisch getöteten Meerschweinchens mit Verdünnungen der üblichen Tuberkuline in Tyrodelösung, so erhält man ganz erhebliche Gefäßkontraktionen, die sich in einer Verminderung der Durchströmungsgeschwindigkeit bzw. der Tropfenzahl am Ausfluß kenntlich machen. Hier handelt es sich im wesentlichen um unspezifische Reize, denn allerhand Eiweißkörper und Eiweißprodukte rufen dieselbe Wirkung hervor. Das gereinigte Tuberkulin aber hat diese unspezifische Wirkung am normalen Tier verloren. Es wirkt ausschließlich, und zwar in kleinen Verdünnungen am tuberkulös infizierten, also am Tuberkulinüberempfindlichen Tier. Bei diesen Durchströmungen des tuberkulösen Tieres wird übrigens das Tuberkulin nicht gebunden, so wenig wie bei den Selterschen Versuchen mit Gewebsbrei. Ebenso erfährt der Uterus eines virginellen normalen Meerschweinchens eine erhebliche Tonussteigerung durch Zufuhr von Tuberkulin, aber auch von Eiweißabbauprodukten, Pepton usw. Das gereinigte Tuberkulin hat diese Wirkung am Organ des normalen Tieres nicht mehr, sondern wirkt ausschließlich auf das Organ der tuberkulösen Tiere. Nach der Durchführung der Reinigung und der Entfernung der unspezifisch wirkenden Körper bleibt also ausschließlich die Wirkung auf das tuberkulöse Gewebe erhalten, sei es nun, daß man sie am isolierten Organ oder am ganzen Tier prüft. Den obigen analoge Durchströmungsversuche kann man auch am isolierten Organ des normalen und tuberkulösen Meerschweinchens durchführen, beispielsweise an der Leber und stets ergibt sich dasselbe. In diesem Zusammenhange mag auch darauf hingewiesen sein, daß die Tuberkulinreaktion eines Organs nicht an die Anwesenheit von tuberkulösem Gewebe in dem reagierenden Gewebe selbst gebunden ist (Bessau), sondern es genügt, daß irgendwo in dem Organismus des Tieres, aus dem das Organ isoliert wurde, ein tuberkulöser Herd vorhanden ist. Nicht das tuberkulöse Gewebe selbst ist der Träger der Reaktion, sondern der tuberkulöse Herd sensibilisiert auch ein im übrigen gesundes Körpergewebe.

Freilich ist auch diese biologische Reinigung noch nicht bis zum Ende durchgeführt, denn am empfindlichsten Reagens auf unspezifische Wirkung, dem überlebenden Dünndarmpräparat des Meerschweinchens, bekommt man auch hier noch gelegentlich unspezifische Reaktionen.

So stellt also auch dieses Präparat noch keineswegs ein Endprodukt der Untersuchung dar. Aber seine Untersuchung gestattet uns zu präziseren Vorstellungen über die chemische Natur des Tuberkulins zu kommen, andererseits bietet die Substanz die Möglichkeit, bei theoretischen Untersuchungen über die Tuberkulinreaktion eine ganze Reihe störender Nebenwirkungen auszuschalten.

Das Tuberkulin im eigentlichen Sinne ist also kein Bakterienteil oder Bakteriensplitter (Selter und Tancré), es ist auch kein

Eiweiß (Koch, Möllers und Heinemann), es ist keine Albumose (Kühn, Matthes und Krehl) und kein polypeptidartiger Körper (Deycke) oder eine Protease (Zinsser). Es ist kein biureter Eiweißabkömmling (Lockemann), worauf auch der Befund von Löwenstein und Pick hinwies. Selbst noch einfachere Eiweißspaltprodukte, welche die Biuretprobe nicht mehr geben, sondern nur noch mit der Ninhydrinprobe positiv reagieren, sind nicht Tuberkuline. Alle diese Körper können Träger des eigentlichen Tuberkulins sein, es an sich binden und mit sich reißen. Sie können es so fest halten, daß diese an sich dialysable Substanz nicht oder nur schwach dialysiert. Das dürfte auch der Grund dafür sein, daß die Ansicht Zielers, welcher das Tuberkulin für dialysabel hält, immer wieder auf Grund tatsächlicher Feststellungen bestritten wurde.

Die theoretischen Ergebnisse dieser Untersuchungen stimmen weitgehend überein mit schon früher mit Gottschalk und Isaac beschriebenen Wirkungen des Tuberkulins auf die intravitale Eiweißautolyse in der Leber und die dadurch vermehrte Reststickstoffbildung. Sie zeigen, daß die Wirkung des spezifischen Reizkörpers Tuberkulin nicht etwa darin spezifisch ist, daß es bei dem tuberkulösen Tier eine ganz eigenartige, durch andersartige Stoffe nicht auszulösende Reizwirkung hervorruft; die Wirkung des Tuberkulins entspricht vielmehr weitgehend derjenigen, welche auch durch unspezifische Reize auszulösen ist. Der biologische Effekt des Tuberkulin ist nicht charakteristisch, soweit er hier diskutiert wird, Er ist unspezifisch. Spezifisch ist es vielmehr, daß dieser Reizkörper, wenigstens in winzigen Mengen, nur beim spezifisch infizierten Tier, beim tuberkulösen Tier diese Erscheinungen als Folgen einer Allergie hervorruft, dagegen beim normalen Tier nicht wirkt. Ob darüber hinaus, beispielsweise die durch die Wirkung des Tuberkulins im tuberkulös infizierten Tier hervorgerufenen histologischen Veränderungen eine dem Tuberkulin allein zukommende, charakteristische Wirkung sind, möge hier unerörtert bleiben.

Kurz sei noch darauf hingewiesen, daß man die vorgewiesenen Tuberkulinkörper darstellen kann, einerlei ob man von dem Alt-Tuberkulin ausgeht, also von den Sekretionsprodukten der Tuberkelbazillen in ihre Kulturflüssigkeit während des Wachstums, oder ob man die gewaschenen Tuberkelbazillenleiber selbst aufschließt.

So wird man also Bedenken haben müssen, ob wirklich, wie man dies gewöhnlich annimmt, Ekto- und Endotuberkulin verschiedene Substanzen sind. Daß sie das gleiche Tuberkulin nur an verschiedenartige und vielleicht auch klinisch verschieden wirksame Trägersubstanzen gebunden enthalten, scheint wahrscheinlicher.

---

3. Vortrag. H. Schloßberger, O. Hartoch, M. Lusena und R. Prigge (Frankfurt a. M.):

Ueber die Brauchbarkeit der Komplementbindung mit verschiedenen Antigenen für die Diagnostik der Tuberkulose.

In Anbetracht der besonders bei initialen tuberkulösen Prozessen vielfach bestehenden diagnostischen Schwierigkeiten ist es verständlich, daß man schon frühzeitig versuchte, die tuberkulöse Natur zweifelhafter

Erkrankungsfälle auf serologischem Wege zu erkennen bzw. auszuschließen. Es erübrigt sich, hier auf die verschiedenen zur Tuberkulosediagnostik angegebenen Agglutinations-, Präzipitations- und Komplementbindungsreaktionen näher einzugehen; es sei in dieser Hinsicht auf das umfassende Uebersichtsreferat von Pfannenstiel verwiesen. Erwähnt sei nur, daß diese früheren Bemühungen trotz Verwendung der verschiedenartigsten Antigene keinen praktisch brauchbaren Erfolg hatten, weil einerseits auch bei ausgesprochenen tuberkulösen Erkrankungen die Reaktion nicht selten negativ ausfiel, andererseits häufig unspezifische Reaktionen, besonders bei der Prüfung von syphilitischen Seris, erhalten wurden. Auch bei Verwendung der neuerdings zur Komplementbindungsreaktion empfohlenen Antigene von Besredka und von Boquet und Nègre, welche im übrigen noch die besten Resultate lieferten, lassen sich nach Angabe der Autoren und nach unseren eigenen Erfahrungen diese unspezifischen Reaktionen nicht vermeiden. Es mußte daher fraglich erscheinen, ob ein zur Erkennung zweifelhafter tuberkulöser Prozesse praktisch verwertbares serodiagnostisches Verfahren nach Art der für den serologischen Syphilisnachweis bewährten Methoden überhaupt gefunden werden kann. Gegen diese Möglichkeit sprach einmal die durch zahlreiche Untersuchungen gewonnene Erkenntnis, daß es sich bei der Komplementbindung der tuberkulösen Sera mit den seither angegebenen Antigenen nicht allein oder überhaupt nicht um eine echte Antigen-Antikörperreaktion handeln kann, ferner aber auch noch die bekannte, gerade im Vergleich mit der Syphilis wichtige Tatsache, daß von einem bestimmten Lebensalter ab jeder Mensch tuberkulös infiziert ist.

Es war deshalb zweifellos eine gewisse Ueberraschung, als v. Wassermann vor etwa einem Jahre die Mitteilung machte, daß es bei Verwendung eines aus tetralinextrahierten humanen Tuberkelbazillen mit austitriertem Lecithinzusatz bestehenden Antigens möglich sei, sogenannte aktive tuberkulöse Erkrankungen von latenten tuberkulösen Prozessen serologisch mittels der Komplementbindungsreaktion zu unterscheiden. Er glaubte sich zu der Annahme berechtigt, daß aus dem „in Tätigkeit" befindlichen tuberkulösen Gewebe, nicht aber von latenten tuberkulösen Herden die zur positiven Reaktion führenden Stoffe, die er offenbar für echte Antikörper hält, in die Blutbahn übertreten. Nach seiner Meinung besteht also ein prinzipieller Unterschied zwischen dem Auftreten dieser Reagine und der durch Tuberkulininjektionen nachweisbaren Allergie des tuberkulösen Organismus, welche ja auch bei ausschließlich latenten Prozessen vorhanden ist. Ohne auf die theoretischen Deduktionen, welche den genannten Autor zur Kombination der Tuberkelbazillen mit Lecithin veranlaßt haben, näher einzugehen, sei nur erwähnt, daß die nach seiner Angabe mit diesem Antigen positiv reagierenden Sera „aktiv' Tuberkulöser mit den tetralinbehandelten Tuberkelbazillen allein oder mit einer Lecithinemulsion keine Komplementbindung geben sollen. Weiterhin gibt er noch an, daß durch den Lecithinzusatz die zwischen Immunstoffen und Tuberkelbazillenprotoplasma sich abspielende Reaktion eine Verstärkung erfahre, und daß bei Verwendung seines Antigens auch die unspezifischen Reaktionen z. B. mit Luetikerseris vollkommen ausgeschaltet werden.

In Anbetracht der Wichtigkeit der Frage, ob eine derartige Unterscheidung zwischen den „in Tätigkeit" befindlichen tuberkulösen Affek-

tionen und latenten Tuberkulosen bzw. anderen, besonders fieberhaften oder zu Gewebszerfall neigenden Erkrankungen auf serologischem Wege mit einer den praktischen Bedürfnissen einigermaßen entsprechenden Regelmäßigkeit durchführbar ist, wurden auf Anregung von Herrn Geheimrat Kolle die Angaben v. Wassermanns an einem größeren Krankenmaterial im Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. nachgeprüft. Durch das liebenswürdige Entgegenkommen einer Reihe von Krankenhaus- und Heilstättendirektoren war es uns möglich, die Sera einer großen Anzahl tuberkulöser und nicht tuberkulöser Patienten zum großen Teil während mehrerer Monate mehrfach zu untersuchen[1]). Wir waren derart auch imstande, die unter dem Einfluß einer längerdauernden Heilstätten- oder Krankenhausbehandlung eintretenden Aenderungen der Sera zahlreicher tuberkulöser Patienten hinsichtlich ihres Verhaltens im Komplementbindungsversuch zu verfolgen. Da uns von den meisten Fällen genügende Serummengen zur Verfügung standen, war es aber auch möglich, die Untersuchungen nicht nur mit dem von v. Wassermann angegebenen lecithinhaltigen Antigen (im folgenden „Tetralin-Antigen" genannt), sondern vergleichsweise auch mit einer Reihe anderer Antigene vorzunehmen.

Das „Tetralin-Antigen" wurde direkt von der Firma Riedel-Berlin bezogen und nach der den Packungen beiliegenden Gebrauchsanweisung zubereitet. Daneben benützten wir nach der Methode von Besredka hergestellte Aufschwemmungen eines humanen Tuberkelbazillenstammes (Tb 7) und des zu den säurefesten Saprophyten gehörenden Butterbazillus Rabinowitsch (S 1). Die beiden Stämme wurden in dem von Besredka angegebenen Eigelbnährboden gezüchtet, nach viertägigem Wachstum wurden die reichlich gewachsenen Bazillen abzentrifugiert und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Anfangs standen uns außerdem eine Anzahl Original-Ampullen des Besredkaschen Antigens, die uns von Dr. Besredka-Paris liebenswürdigerweise überlassen worden waren, für unsere Untersuchungen zur Verfügung.

Aus den beiden Stämmen Tb 7 (Typus humanus) und S 1 (sog. säurefester Saprophyt) stellten wir uns weitere Antigene mittels Extraktion her. Diese wurde im Soxhlet-Apparat vorgenommen, und zwar wurden die auf Glyzerinagar kultivierten Bazillen zunächst 24 bis 48 Stunden lang mit Aceton, dann je etwa 1 Woche lang mit Aethylalkohol und mit Chloroform extrahiert und hierauf in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Da sich im Verlauf unserer Untersuchungen weiterhin herausstellte, daß die saprophytischen säurefesten Bakterien im Gegensatz zu der allgemein verbreiteten Auffassung durch Antiformin aufgelöst werden — worüber Herr Dr. K. Nakamura in der Zeitschrift für Hygiene eingehender berichten wird — wurde eine Reihe der Sera mit einem Antiforminextrakt der Butterbazillen (Stamm S 1), und zwar sowohl im Komplementbindungs- als auch im Flockungsversuch untersucht. Der Antiforminextrakt wurde in der Weise hergestellt, daß Aufschwemmungen des Stammes S 1 in physiologischer Kochsalzlösung mit der gleichen Menge einer 30proz. Antiforminlösung versetzt und 1 Stunde lang im Brutschrank bei 37° digeriert wurden; der abzentrifugierte Boden-

1) Bei der Durchführung der Untersuchungen waren noch Dr. W. Ortlepp, Dr. W. Hole und Fräulein L. Kicksch tätig.

satz wurde zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit 5proz. Schwefelsäure (Indikator: Lackmuspapier) und 5proz. Natriumsulfitlösung (Indikator: Jodkaliumstärkekleisterpapier) neutralisiert.

Im Hinblick auf die Flockungsresultate, welche Sachs und Klopstock beim Zusammenbringen verdünnten Serums tuberkulöser Patienten mit Lecithinemulsionen in Gegenwart von Calciumchlorid erzielten, prüften wir sowohl die mit Tetralin wie die nach unserer Methode mit Aceton, Alkohol und Chloroform extrahierten Tuberkel- und Butterbazillen, als auch den Antiforminextrakt mit und ohne Lecithinzusatz. Endlich wäre noch zu erwähnen, daß wir bei verschiedenen Seris auch das von Fornet, allerdings zu Agglutinationszwecken angegebene Tuberkelbazillendiagnostikum, das wir uns zum Teil selbst herstellten, zum Teil von Dr. Fornet zur Verfügung gestellt erhielten, auf seine Brauchbarkeit als Antigen im Komplementbindungsversuch untersuchten.

Die Einstellung der Antigene geschah in der allgemein üblichen Weise. Die Anordnung des Hauptversuchs wurde, um möglichst optimale Verhältnisse aufzufinden, in der verschiedensten Weise modifiziert und variiert. Teils wurde entsprechend der von Besredka übernommenen Methode von Calmette und Massol das Komplement, teils das Antigen und teils das Patientenserum in abgestuften Mengen verwendet. Bei der Untersuchung einer größeren Anzahl Krankensera, von denen uns genügende Mengen zur Verfügung standen, haben wir sogar, um allen Eventualitäten gerecht zu werden, die genannten 3 Komponenten gleichzeitig variiert.

Im allgemeinen hat sich uns in Uebereinstimmung mit den Angaben der französischen Autoren das Arbeiten mit fallenden Komplementdosen am besten bewährt. Wir hielten uns dabei zum Teil an eine von Herrn Dr. W. Broughton-Alcock, London, ausgearbeitete und uns brieflich mitgeteilte Versuchstechnik. Wir gingen dabei so vor, daß zunächst in einem Vorversuch die in Gegenwart der Gebrauchsdosis des betreffenden Antigens gerade komplett lösende Dose des zur Verfügung stehenden Meerschweinchenserums bestimmt wurde; im Hauptversuch wurde sodann das 1, $1^1/_2$, 2 und $2^1/_2$fache dieses Wertes verwendet. Eine Reihe von Sera wurde hierbei mit 2 verschiedenen Antigendosen geprüft. Abgesehen von den Antigen- und Serumkontrollen wurde bei jedem Versuch darauf geachtet, daß genügend Sera nicht tuberkulöser und nicht tuberkuloseverdächtiger Individuen zum Vergleich mitgeprüft wurden.

Im ganzen wurden 285 Sera, die von 134 Tuberkulösen der verschiedenen Stadien — teils vorwiegend exsudativen, teils produktiven Formen — stammten, sowie zur Kontrolle 243 Sera mit den verschiedensten Krankheiten behafteter Patienten (insbesondere Lues der verschiedenen Stadien, Paralyse, Malaria, Rückfallfieber, Encephalitis epidemica, Chorea, Diabetes, Icterus etc.), sowie Gesunder (darunter auch Schwangere), welche klinisch keinerlei Anzeichen einer tuberkulösen Erkrankung darboten, geprüft. Es würde zu weit führen, wollten wir hier die Ergebnisse unserer umfangreichen vergleichenden Untersuchungen im einzelnen aufführen. Wir wollen uns vielmehr hier darauf beschränken, über unsere Resultate zusammenfassend zu berichten.

Die nachfolgende Tabelle 1 gibt zunächst eine Zusammenfassung

der bei unseren Komplementbindungsversuchen erhaltenen Resultate. Der Uebersichtlichkeit halber haben wir darauf verzichtet, die Stärke der einzelnen Reaktionen (+ bis ++++) besonders zu berücksichtigen. Als positive Ausfälle wurden nur diejenigen Sera bezeichnet, die bei einwandfrei gelösten Kontrollen eine deutliche Hemmung der Hämolyse erkennen ließen; zweifelhafte Reaktionen wurden als „negativ" protokolliert.

Tabelle I.

Uebersicht über die Komplementbindungsversuche mit verschiedenen Antigenen, sowie tuberkulösen und nichttuberkulösen Seris.

Antigen	Sera „aktiv" Tuberkulöser			Kontrollsera		
	Gesamtzahl	davon positiv		Gesamtzahl	davon positiv	
		Anzahl	in Proz.		Anzahl	in Proz.
Besredka-Antigen aus Tb.	83	51	61,4	133	29	21,8
desgl. aus S 1	129	74	57,4			
Wassermann-Antigen mit Lecithin	218	154	70,6	164	45	29,2
Extrahierte Tb 7	252	150	60,0	223	38	17,0
Extrahierte S 1	92	44	48,0	40	7	17,5
Fornetsches Antigen	37	14	38,0	28	9	32,1
Antiforminextrakt aus S 1	77	44	57,0	70	16	22,9

Aus der vergleichenden Betrachtung der Tabelle 1 ergibt sich, daß das v. Wassermannsche Tuberkelbazillen-Antigen zwar mit Seris von Tuberkulösen die meisten positiven Reaktionen (70,6 Proz.) gibt, daß es aber gleichzeitig — wenn man von dem für Komplementbindungszwecke unbrauchbaren Fornetschen Antigen absieht — hinsichtlich der Spezifität auch am ungünstigsten abschneidet, indem es bei 29,2 Proz. sicher Nichttuberkulöser eine deutliche Komplementablenkung bewirkt. Andererseits ergaben die übrigen Antigene, nämlich die nach der Besredkaschen Methode bereiteten Bazillenaufschwemmungen, der aus S 1 bereitete Antiforminextrakt, sowie besonders die mit Aceton, Aethylalkohol und Chloroform extrahierten Butter- und Tuberkelbazillen zwar bei Seris „aktiv" Tuberkulöser nur in einem geringeren Prozentsatz der Fälle ein positives Resultat, dafür aber auch wesentlich weniger unspezifische Reaktionen.

Es lag nahe, diese bei dem Wassermannschen Antigen relativ häufig beobachteten unspezifischen Reaktionen auf den von v. Wassermann inaugurierten Lecithinzusatz zu beziehen. Um diese Vermutung zu bestätigen, haben wir, wie bereits erwähnt, eine Reihe tuberkulöser und nicht tuberkulöser Sera auf ihr Verhalten gegenüber lecithinbeladenem und lecithinfreiem Tetralin-Antigen geprüft und zum Vergleich auch unser Tb 7-Antigen sowohl mit als auch ohne Lecithinzusatz herangezogen. Die Resultate dieser Versuche, welche in Tabelle 2 zusammenfassend aufgeführt sind, sind in mehrfacher Hinsicht bemerkenswert. Zunächst ergibt sich daraus einmal die Tatsache, daß ebenso wie die nach unserer Methode von Wachs- und Lipoidstoffen befreiten Tuberkelbazillen auch die tetralinextrahierten Tuberkelbazillen Wassermanns im Gegensatz zu dessen Angaben auch ohne Lecithinzusatz mit tuberkulösen Seris in einem gewissen Prozentsatz (44 Proz.) eine positive Komplementbindung geben. Durch den Lecithin-

zusatz wird die Reaktionsfähigkeit der extrahierten Bazillen im allgemeinen zwar meist erhöht; Hand in Hand mit einer Zunahme der spezifischen Reaktionen nimmt aber auch die Zahl der unspezifischen Ergebnisse ganz erheblich zu. Insbesondere sind es entgegen den Angaben v. Wassermanns gerade die luetischen Sera, welche mit den aus lecithinbeladenen Tuberkelbazillen bestehenden Antigenen häufig positiv reagieren. Andererseits reagierten bemerkenswerterweise einige Sera sicher aktiv Tuberkulöser nur mit dem lecithinfreien, nicht aber mit dem nach Vorschrift mit Lecithin behandelten Wassermannschen Antigen.

Tabelle II.

Wirkung des Lezithinzusatzes auf die Spezifität der Komplementbindung mit extrahierten Tuberkelbazillen.

Antigen	Sera „aktiv" Tuberkulöser			Kontrollsera		
	Gesamtzahl	davon positiv		Gesamtzahl	davon positiv	
		Anzahl	in Proz.		Anzahl	in Proz.
Wassermann-Antigen mit Lecithin	218	154	70,6	164	45	29,2
desgl. ohne Lecithin	57	25	44,0	25	3	12,0
Tb. 7-Antigen mit Lecithin	29	20	69,0	25	8	32,0
desgl. ohne Lecithin	252	150	60,0	223	38	17,0

Was die Aenderungen der Serumreaktion bei tuberkulösen Patienten im Laufe einer länger dauernden Beobachtung bzw. Behandlung anlangt, so konnten wir ebenso wie Jacob und Moeckel, deren Resultate mit den unsrigen auch in sonstiger Hinsicht etwa übereinstimmen, keine Konstanz beobachten. Eine Verstärkung oder eine Abnahme der Komplementbindungsreaktion war sowohl bei Besserung als auch bei Verschlechterung des klinischen Befundes festzustellen.

Kurz zu erwähnen wären noch die Resultate unserer Flokkungsversuche, zu welchen wir den aus Butterbazillen (S 1) hergestellten Antiforminextrakt verwendeten. Während dieser Extrakt nach Zusatz zu tuberkulösen Seris allein keine oder nur sehr schwache Ausflockungen bewirkte, gelang es durch Zufügen von Lecithinlösung bei zahlreichen tuberkulösen Seris positive Ausflockungen zu erhalten. Als optimales Mischungsverhältnis erwies sich uns ein Zusatz von 3 Tropfen des unverdünnten Extrakts und 0,25 ccm einer 6fach fraktioniert mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnten einprozentigen alkoholischen Lecithinlösung zu 1 ccm des 5fach verdünnten Patientenserums. Von 51 derart geprüften tuberkulösen Seren gaben 29 eine deutliche Ausflockung. Leider wird aber auch hier, offenbar durch den Lecithinzusatz, die Spezifität des Vorgangs herabgesetzt; von 85 zur Kontrolle mitgeprüften Seren nicht tuberkulöser Kranker gaben 17, vor allem seropositive Luetiker, eine positive Flockung. Durch die verschiedenartigste Modifikation der Versuchsanordnung, so wie durch gewisse Zusätze (Tolubalsam, Cholesterin, Calciumchlorid, etc.) versuchten wir die Ergebnisse der Flockungsmethode zu verbessern, leider jedoch ohne Erfolg.

Die hier kurz mitgeteilten Ergebnisse unserer Untersuchungen über

die Möglichkeit und die Zuverlässigkeit einer Serumdiagnostik der Tuberkulose stehen in gewisser Uebereinstimmung mit den entsprechenden Resultaten früherer Autoren und, wie bereits erwähnt, auch mit den Feststellungen von Jacob und Moeckel, die neuerdings im Anschluß an die Publikation v. Wassermanns dessen Komplementbindungsmethode einer umfangreicheren Nachprüfung unterzogen haben. Wenn auch diese beiden Autoren bei klinisch sicher Tuberkulösen in einem etwas höheren Prozentsatz positive Reaktionen (in 80,2 bis 87 Proz.) und bei andersartig Erkrankten weniger unspezifische Ausfälle (11,3 bis 16,4 Proz.) erhielten, als wir, so ändern doch die hier bestehenden, wohl durch die Verschiedenheit des Krankenmaterials bedingten Unterschiede nichts an der prinzipiell wichtigen Tatsache, daß den bisher angegebenen serodiagnostischen Methoden für die Erkennung tuberkulöser Prozesse keine integrierende Bedeutung beizumessen ist. Insbesondere haben unsere Untersuchungen keinerlei Anhaltspunkte dafür ergeben, daß die von v. Wassermann angestrebte Trennung der sogenannten aktiven (= „in Tätigkeit befindlichen") Tuberkulose von nicht aktiven Prozessen auf serologischem Wege möglich ist.

Diese Abgrenzung ist übrigens auch vom pathologisch-anatomischen und vom klinischen Standpunkt aus nicht angängig; bisher fehlt überhaupt eine hinreichend fundierte, praktisch brauchbare Definition der Bezeichnung „aktiv". Das Epitheton „aktiv" wird im klinischen Sprachgebrauch ebenso wie der Ausdruck „latent" lediglich zur kurzen Charakterisierung eines momentanen Krankheitszustandes verwendet; eine Uebertragung beider Bezeichnungen auf die dauernden Veränderungen unterworfenen biologischen Vorgänge erscheint uns daher nicht angebracht. Soll „aktiv" im Sinne v. Wassermanns identisch sein mit „progredient" oder ist nach seiner Ansicht darunter die Auslösung von Reaktionsprozessen von seiten des befallenen Körpers zu verstehen? Eine Trennung dieser beiden Vorgänge auf serologischem Wege erscheint schon deshalb nicht durchführbar, weil, vor allem nach den eingehenden Untersuchungen Aschoffs, auch bei den progredientesten Phthisen stets Reparationsvorgänge von seiten des infizierten Organismus interferieren. Andererseits ist es eine hinreichend bekannte Tatsache, daß vollkommen latente, also nach v. Wassermanns Definition nicht „in Tätigkeit befindliche" tuberkulöse Herde jederzeit wieder „aktiv" werden können.

Weiterhin erhebt sich die Frage, ob eine in Heilung übergehende regressive Tuberkulose für den Ablauf der biologischen Vorgänge als aktiv oder inaktiv zu bezeichnen ist. Gerade von der regredienten Tuberkulose ist es aber bekannt, daß hier infolge des Ueberwiegens der reparativen Vorgänge die Tuberkelbazillen und das tuberkulöse Gewebe in besonders starkem Maße zugrunde gehen. In der Tat wurde bei einem Teil der Patienten, deren Serum wir mehrfach untersuchten, die Komplementbindung stärker, als unter dem Einfluß der Heilstättenbehandlung und spezifischen Therapie der Prozeß zurückging, also der inaktiven Form sich näherte. Leider war der hier mehrfach beobachtete Parallelismus nicht mit der gewünschten Konstanz nachzuweisen, so daß sich unsere ursprüngliche Hoffnung, die Komplementbindungsreaktion hauptsächlich für prognostische Zwecke verwenden zu können, nicht erfüllte.

Trotz dieser wenig befriedigenden Ergebnisse möchten wir aber

doch der Komplementbindung bei Tuberkulose nicht jeden Wert absprechen. Vielmehr glauben wir, daß es vielleicht durch Heranziehung geeigneter anderer Verfahren, z. B. nach Art der von Sachs und Klopstock angegebenen Lecithin-Calcium-Flockungsreaktion, möglich sein wird, die Zahl der unspezifischen Reaktionen auszuschalten, bzw. dieselben als solche zu erkennen. Durch eine derartige Kombination dürfte es vielleicht gelingen,, die praktisch-diagnostische Brauchbarkeit der Komplementbindungsreaktion bei Tuberkulose für bestimmte klinische Zwecke zu erhöhen.

Literatur.

W. Pfannenstiel, Zusammenfassende Studie über die Ergebnisse der Serodiagnostik der Tuberkulose und Lepra. Ergebnisse der Hyg. usw. Herausg. v. W. Weichardt. Bd. 6. 1923. S. 103. — A. v. Wassermann, Ueber experimentelle Grundlagen für eine spezifische Serodiagnostik auf aktive Tuberkulose. Dtsch. med. Woch. Bd. 49. Nr. 10. 1923. S. 303. — L. Jacob u. K. Moeckel, Erfahrungen mit v. Wassermanns neuer Reaktion auf aktive Tuberkulose. Münch. med. Woch. Bd. 71. Nr. 17. 1924. S. 539. — H. Sachs u. A. Klopstock, Ueber die Verwendbarkeit des Lecithins zum Nachweis gewisser Serumveränderungen unter besonderer Berücksichtigung der Tuberkulose. Dtsch. med. Woch. Bd. 49. Nr. 41. 1923. S. 1292.

---

4. Vortrag. Bruno Lange (Berlin):

Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Tröpfchen- und Staubinfektion bei der Tuberkulose.

Unsere Kenntnis der wichtigsten Verbreitungsweisen der Tuberkulose ist durch zahlreiche experimentelle Arbeiten neben pathologisch-anatomischen Beobachtungen wesentlich gefördert worden, und doch herrscht heute noch keine Klarheit darüber, welche Bedeutung den einzelnen Verbreitungsweisen unter den Verhältnissen der Praxis zuzusprechen ist.

Aus meinen Untersuchungen über orale, konjunktivale und nasale Infektion des Meerschweinchens mit kleinsten Bazillenmengen habe ich den Schluß ziehen müssen, daß die Kontaktinfektion im Kindesalter eine größere Rolle spielt, als man ihr — wenigstens in Deutschland — bisher zuerkannt hat.

Ich möchte Ihnen heute berichten über experimentelle Untersuchungen, die die Bedeutung der Tröpfchen- und Staubinfektion zum Gegenstand haben. Die Versuche habe ich zum Teil gemeinsam mit Herrn Dr. Keschischian und Herrn Dr. Nowosselsky ausgeführt.

Ohne Frage hat im Laufe der Jahre die Theorie der Tröpfcheninfektion stark an Boden gewonnen und die alte von Villemin, Robert Koch, später von Cornet vertretene Anschauung von der hervorragenden Bedeutung der Ansteckung durch Einatmung trocknen Sputumstaubes mehr und mehr in den Hintergrund gedrängt.

Als Hauptstütze für beide Theorien werden von den Vertretern der Tröpfchen- und der Staubtheorie neben epidemiologischen Erwägungen auch eine Reihe von Tierexperimenten ins Feld geführt. Welches Urteil ist aus den bisherigen Beobachtungen zu gewinnen?

Klar erwiesen ist durch die experimentellen Untersuchungen, daß Bakterien, mit feinsten Tröpfchen oder mit Staub eingeatmet, sofort

bis tief in die Lungen hinein aspiriert werden. In welchem Umfange dies aber geschieht, darüber herrscht noch keine Uebereinstimmung. Die Ansicht der Flüggeschen Schule geht dahin, daß von inhalierten Bakterien in Staub nur etwa 4 Proz., von inhalierten Bakterien in feinsten Tröpfchen etwa 30 Proz., also wesentlich mehr, in die Lungen hineingelangen.

Meine eigenen mit Herrn Dr. Keschischian ausgeführten Untersuchungen haben nun als Durchschnittswerte für die bis in die Lungen eindringenden Keime ergeben: 21,5 Proz. bei Versprühung, 12 Proz. bei trockener Verstäubung. Wir gingen so vor, daß wir Meerschweinchen in einem Inhalationsturm, wie ihn Reichenbach konstruiert hat, eine mit trockenem bakterienhaltigen Staub und eine mit feinsten keimhaltigen Tröpfchen angereicherte Luft einatmen ließen. Zur trocknen und feuchten Verstäubung dienten Sporen, daneben auch Heubazillen und Colibakterien, als Staub wurde Talkumpulver verwandt. Durch Absaugen der Turmluft mittels Aspirators, Auswaschen der Luft in einer mit Kochsalzlösung gefüllten Vorlage und kulturelle Verarbeitung des Luftwaschwassers bestimmten wir den Keimgehalt pro 1 Liter Luft. Die Meerschweinchen wurden sofort nach der Inhalation getötet, beide Lungen von den gröberen Bronchien abgestreift, zerschnitten, im Mörser mit bestimmter Menge Kochsalzlösung oder Bouillon fein zerrieben und durch Plattenverfahren oder nach der Verdünnungsmethode auch der Keimgehalt dieser Lungenaufschwemmungen bestimmt.

Aus den Versuchen hat sich ergeben, daß bei Verwendung sehr feinen Staubes und eines Sprays, der zahlreiche feinste Tröpfchen von wenigen μ Größe lieferte, erstens eine recht erhebliche Keimmenge bei der Einatmung sofort bis in die Lungen eindringt, zweitens daß in dieser Beziehung der Unterschied zwischen trocken und feucht verstäubten Bakterien lange nicht so erheblich ist, wie bisher allgemein angenommen wurde. Die für Staub und Spray gefundenen Werte verhalten sich nicht wie 1:8, sondern ungefähr wie 1:2. Neuere quantitative Untersuchungen über die Einatmung von Metallstaub — wie die Experimente von Lehmann und seiner Schule — haben übrigens für die in die Lungen eindringende Staubmenge bei Kaninchen und Hunden gleiche, zum Teil noch höhere Werte ergeben. Von besonderem Interesse ist, daß in den Versuchen von Lehmann, Saito und Gfrörer auch an Menschen Prozentzahlen von 35,0 bis 42,9 bei natürlicher Nasenatmung ermittelt werden konnten. In diesen Zahlen ist allerdings der nicht geringe von Kehlkopf, Trachea und größeren Bronchien zurückgehaltene Staubanteil miteinbegriffen.

Welche Schlüsse können nun aus unseren Inhalationsversuchen und den früheren in dieser Richtung angestellten von Findel, Reichenbach, Paul, Nenninger u. a. hinsichtlich der aerogenen Entstehung der Tuberkulose unter natürlichen Bedingungen gezogen werden?

Wenden wir uns zunächst der Frage der Tröpfcheninfektion zu.

Liegen Anhaltspunkte vor für die Annahme, daß auch ausgehustete bazillenhaltige Tröpfchen mit der Einatmung bis in die Lungen eindringen und dort eine Infektion erzeugen können?

Versuche mit Anhusten von Meerschweinchen durch Phthisiker — diese haben fast ausschließlich für die Praxis Bedeutung — zeigen, daß Meerschweinchen infolge Einatmung bazillen-

haltiger Hustentröpfchen eine primäre Lungeninfektion erwerben können. Diese Versuche lassen aber zugleich erkennen, wie schwer es gelingt, in dieser Beziehung wie überhaupt durch Anhusten von Meerschweinchen positive Resultate zu erzielen. Die relativ häufigen primären Infektionen der Lungen, die Chaussé beobachtete, wurden an Meerschweinchen festgestellt, welche 83 bis über 400 Hustenstößen in einem engen Kasten und in mit Feuchtigkeit gesättigter Luft ausgesetzt waren. Dabei husteten die Kranken durch ein geschlossenes Rohr in den Kasten hinein. Ihr Sputum enthielt pro 1 mg 4500 bis über 100000 Tuberkelbazillen. Es handelt sich also mindestens um ausgesucht günstige Bedingungen für das Zustandekommen der Lungeninfektion durch feinste Tröpfchen. Wenn die angehusteten Meerschweinchen, den natürlichen Verhältnissen entsprechend, den Hustenden frei gegenübersitzen, gelingt nach allen Erfahrungen eine primäre Lungeninfektion der Tiere nur selten.

Das Experiment muß aber oft übertreiben, um überhaupt positive Ausschläge zu erzielen. Mit Rücksicht darauf und auf das viel stärkere Ansaugen feinster Tröpfchen durch den Atemstrom des Menschen glaube ich, daß wir in der Praxis mit einer Aspiration feinster Hustentröpfchen durch den Menschen und wahrscheinlich auch mit einer hierdurch bedingten primären Infektion der menschlichen Lunge zu rechnen haben.

Solche Infektionen sind aber nach dem Tierexperiment nur dann zu erwarten, wenn ein Phthisiker Bazillen ausstreut in Tröpfchen, die der Größe der infizierenden Tröpfchen des künstlichen Sprays, also etwa den Tröpfchen des Buchner-Sprays entsprechen, das heißt eine Größe von ca. 2—20 μ haben. Denn ausschließlich diese kleinsten Bazillen führenden Tröpfchen sind es, wie im besonderen Chaussé zeigen konnte, welche in Inhalationsversuchen mit künstlicher Verstäubung von Sputum oder Bazillen-Aufschwemmungen, in die Lungen eingeatmet, die Tiere mit verblüffender Sicherheit infizieren.

Daß auch für die primäre Lungeninfektion des Menschen nur die allerkleinsten bazillenhaltigen Tröpfchen in Frage kommen, dafür sprechen die Ergebnisse folgender Untersuchungen, die ich in Ergänzung früherer Versuche von Heymann, Hippke und Chaussé angestellt habe.

Die bei Versprühung wässeriger oder eiweißhaltiger Eosinlösungen gelieferten Tröpfchen habe ich durch eine 10 mm weite, rechtwinklig gebogene Glasröhre mit starkem Luftstrom hindurchgesaugt. Der horizontale Schenkel der Röhre war gegen den Spray hin gerichtet, der vertikale führte in einen Glaskolben hinein, auf dessen Boden sich ein Objektträger befand, 0,5 cm unter der Mündung der Glasröhre. Ein zweites Glasrohr führte durch den Kautschukstopfen des Kölbchens zu einer Wasserstrahlluftpumpe. Wenn der Spray nun aus nächster Nähe direkt auf die freie Mündung der Glasröhre auftraf, so wurden nur Tröpfchen bis zu höchstens 100 μ durch den starken Luftstrom hindurchgerissen und auf den Objektträger im Glaskolben ausgeschleudert. Aehnlich waren die Resultate, wenn ich selbst mit dem Munde die Luft durch die Glasröhre während des Versprühens kräftig ansaugte. Wurde aber eine Glasröhre mit 2 oder mehr Biegungen verwandt, oder traf der Spray den horizontalen Schenkel der Röhre in einem Winkel, dann gelangten auch bei stärkstem Ansaugen nur Tröpfchen von 2 bis 20 μ durch die Röhre hindurch. Diese

Größe entspricht genau derjenigen der im Meerschweinchenversuch wirksamen Tröpfchen eines Buchner-Sprays.

Nun sind die Widerstände, die sich in den oberen Luftwegen des Menschen eindringenden Hustentröpfchen gegenüber geltend machen, sicher stärker als die, welche ein einfach gekrümmtes Glasrohr mit glatter Wand den Tröpfchen eines Eosinsprays entgegenstellt. So glaube ich, aus den Versuchen schließen zu dürfen, daß bei der natürlichen Einatmung von Tröpfchen verschiedener Größe durch den Menschen Tropfen über 100 μ niemals, über 20 μ höchstens ausnahmsweise die mannigfachen Hindernisse der oberen Luftwege überwinden können. Hustentröpfchen einer Größe von 20 μ und darunter sind aber, wie aus den umfangreichen Untersuchungen von Ziesché, Heymann und Hippke hervorgeht, bisher nur sehr selten nachgewiesen worden. Das Gros der bazillenführenden Bronchialtröpfchen zwischen 100 und 500 μ kommt für die Aspiration bis in die Lungen überhaupt nicht in Frage.

Ich bin nun der Ansicht, daß gerade die kleinsten Hustentröpfchen sich nicht so selten dem Nachweis nach der bisher gebräuchlichen Objektträgermethode entziehen. Aber selbst wenn wir annehmen, daß bazillenhaltige Bronchialtröpfchen von etwa 10 bis 20 μ öfter vorkommen, als bisher festgestellt werden konnte, kann bei Menschen eine primäre Lungeninfektion durch Einatmung flugfähiger Hustentröpfchen doch nur relativ selten zustande kommen, vor allem, weil Chancen für einen Bazillengehalt solcher feinster Tröpfchen nur bei sehr großen Bazillenmengen des Bronchialsekretes gegeben sind. Bei starker Einatmung mit offenem Munde werden wohl gelegentlich auch einmal größere Tröpfchen mit zahlreichen Bazillen aspiriert werden können, diese müssen aber wegen ihrer Schwere durch Trachea und Bronchien abgefangen werden.

Wenn meine Auffassung von der Seltenheit einer primären Lungeninfektion durch Einatmung von Hustentröpfchen richtig ist, kann die Theorie von der überragenden Bedeutung der Tröpfcheninfektion nicht mehr aufrecht erhalten werden.

Ohne Frage kann nun die Infektion bei Menschen durch Hustentröpfchen noch in anderer Weise vor sich gehen. Die Tröpfchen können zum Teil in die Nasenhöhle eindringen und vom Nasenrachenraum aus eine Infektion machen, oder sie setzen sich auf die Augenbindehäute, die Lippen, auf Gegenstände der Umgebung des Kranken ab und führen gegebenenfalls zur Kontaktinfektion.

Eine größere Gefahr scheint mir aber daraus zu entstehen, daß die ausgehusteten, überallhin verstreuten Tröpfchen trocknen und mit feinem Staub in die Luft übergehen können.

Damit komme ich zur Frage der Bedeutung der Staubinfektion für die Ausbreitung der Tuberkulose.

Wie zahlreiche Beobachtungen, besonders der Flüggeschen Schule ergeben haben, halten sich Tuberkelbazillen in trockenem Staub 8 bis 14 Tage lebensfähig, sie können in feinem Staub infektionstüchtig durch schwächste Luftströmungen forttransportiert werden. Die enorme Flugfähigkeit feinster Staubteilchen befähigt diese, stundenlang frei in der Luft zu schweben, sich ihnen entgegenstellende Hindernisse häufig genug zu überwinden und, von Menschen oder Tieren eingeatmet, mühelos bis in die feinsten Bronchien und Alveolen der Lungen einzudringen. Wenn wir dies berücksichtigen und weiter, daß vom Phthisiker,

sei es mit Sputum, sei es mit Hustentröpfchen, täglich, ja stündlich zahlreiche Bazillen auf alle Gegenstände seiner näheren Umgebung verstreut werden, daß die Hantierungen des täglichen Lebens von diesen bazillenführenden Gegenständen, von Fußboden, Möbeln, Kleidung usw. häufig feinen Staub in reichlicher Menge zur Ablösung bringen, müssen wir den Verdacht gewinnen, daß eine Infektionsgefahr durch Staubeinatmung sehr häufig gegeben ist.

Von den Vertretern der Tröpfchentheorie, im besonderen von Flügge und Reichenbach sind nun gegen eine hervorragende Bedeutung der Staubinfektion eine Reihe von Gesichtspunkten geltend gemacht worden.

Zunächst wird immer wieder hingewiesen auf das vielfache Mißglücken von Versuchen, Tiere durch Einatmen bazillenhaltigen Staubes zu infizieren.

Hierzu ist zu sagen, daß frühere derartige Versuche deswegen so oft negativ ausgefallen sind, weil man das Absterben eines Teiles der Bazillen durch das künstliche Trocknen nicht berücksichtigt hat. Die Infektion mit Staub gelingt mit größter Sicherheit, wenn man nur das Trocknen schonend vornimmt und dafür sorgt, daß genügend lebende Tuberkelbazillen in feinstem Staub in die von den Versuchstieren einzuatmende Luft übergehen. Diese Staubexperimente übertreiben zwar auch die natürlichen Verhältnisse, sie kommen ihnen aber ganz erheblich näher als die Versuche mit dem Buchner-Spray.

Zweitens soll im Gegensatz zu feinsten Tröpfchen der überwiegend größere Teil auch feinsten trockenen Staubes in den oberen Luftwegen zurückgehalten werden. Wie meine Untersuchungen mit Keschischian ergeben haben, trifft dies lange nicht in dem Maße zu.

Ferner sollen in trockenem Zustande Tuberkelbazillen erst in viel größerer Menge, als mit Tröpfchen eingeatmet, primäre Lungentuberkulose bei Versuchstieren erzeugen können, ein ähnliches Verhalten sei bei Menschen zu erwarten.

Die Untersuchungen von Köhlisch, auf die sich diese Hypothese stützt, sind aber insofern fehlerhaft, als der Autor das Absterben eines Teiles der Bazillen während des künstlichen Trocknens nicht berücksichtigt hat.

In meinen mit Herrn Dr. Nowosselsky angestellten Versuchen ist nun die Zahl der in die Luft übergehenden lebenden Bazillen durch Tierimpfung möglichst genau ermittelt worden. Das Ergebnis war: einzelne wenige in die Lungen des Meerschweinchens eingeatmete Tuberkelbazillen können bereits eine primäre Lungentuberkulose erzeugen. Die Versuchsanordnung war folgende: 24 Stunden bei 37° getrocknete Tuberkelbazillen wurden mit Talkumpulver in einem Mörser zerrieben und das verstäubte Gemisch in den Inhalationsturm von unten hineingeleitet, derart, daß im Turm selbst nur feinster Staub aufstieg. Dieser Staub wurde während 30 Minuten von mehreren in Käfigen fixierten Meerschweinchen eingeatmet, deren Kopf in den Turm hineinragte. Während der Versuchszeit wurden 30 Liter Luft aus dem Turm in Höhe der Köpfe der Tiere abgesaugt, und die Luft durch Kochsalzlösung hindurchgeleitet. Mit dem Luftwaschwasser wurden nun in abgestuften Mengen, und zwar etwa mit $^1/_{50}$, $^1/_{200}$, $^1/_{1000}$ der Gesamtwaschflüssigkeit, Meerschweinchen subkutan geimpft und die Grenze der Wirksamkeit ermittelt. Es ergab

sich in den Versuchen ein Keimgehalt der gesamten zur Atmung verfügbaren 30 Liter Luft von 500 bis unter 50 Tuberkelbazillen. Die kleinste von den Lungen aus noch wirksame Bazillenmenge wurde dann ermittelt aus dem Atemvolumen der Tiere = $^1/_3$ Liter pro Min., der von uns gefundenen Durchschnittszahl für die in die Lungen eindringende Staubmenge = 12 Proz., teilweise daneben noch aus dem Ergebnis der Verimpfung der gesamten zu einem Brei verriebenen Lungen eines sofort nach der Inhalation getöteten Meerschweinchens und dem Infektionserfolg bei den weiter beobachteten Tieren. Von 6 derartigen Versuchen fielen nur 2 negativ aus. In diesen betrug die Bazillenmenge pro 30 Liter Turmluft nachweislich unter 100 bzw. 50. In 4 Versuchen mit einer Bazillenmenge von 50 bis 500 pro 30 Liter Luft erkrankten die exponierten 9 Meerschweinchen sämtlich an Tuberkulose, 8 mit 1 bis 5 Primärherden in den Lungen. Nehmen wir ganz grob als Durchschnittszahl der Bazillen in der Luft 300 an, so hatte jedes Meerschweinchen 100 inhaliert, 12 Proz. = 12 Bazillen waren in die Lungen eingedrungen und hatten bis zu 5 Primärherde gesetzt, d. h. es entspricht wahrscheinlich jedem einzelnen in die Alveolen eingedrungenen Tuberkelbazillus ein tuberkulöser Herd.

Also auch das dritte gegen die Bedeutung der Staubinfektion angeführte Argument ist nicht aufrecht zu halten.

Es ist nun weiterhin von Flügge und seiner Schule darauf hingewiesen worden, daß nach vielen Experimenten tuberkelbazillenhaltiges Sputum an Taschentüchern, auf dem Fußboden usw. schwer völlig trocknet und sich auch dann nur schwer in feinen Staub zerreiben läßt, daß ferner dieser Staub von der jeweilig in Betracht kommenden Unterlage nur durch starke mechanische Erschütterungen und sehr kräftige Luftströme aufgewirbelt werden kann. Derartige Bedingungen seien in der Praxis höchstens gelegentlich einmal vorhanden, außerdem sei eine gröbere Verunreinigung des Fußbodens mit Auswurf in heutiger Zeit relativ selten. Gegen die Staubtheorie werden noch weitere Beobachtungen, so die Seltenheit positiver Bazillenbefunde im Staub von Phthisikerwohnungen und andere Momente angeführt.

Ich kann an dieser Stelle nur ganz kurz auf die letztgenannten Einwände eingehen.

Als Infektionsquelle kommt nach meiner Ueberzeugung nicht, wie Cornet meint, fast ausschließlich das am Fußboden und an Taschentüchern angetrocknete Sputum in Frage, vielmehr daneben in hohem Grade die vom Phthisiker ausgehusteten Tröpfchen. Die näheren Bedingungen dieser praktisch ungemein wichtigen Tröpfchenverstreuung erforscht zu haben, ist Flügges bleibendes Verdienst.

Daß die Ablösung bazillenhaltigen feinen Staubes in der Praxis nur gelegentlich einmal vorkommt, weil die zur Ablösung erforderlichen Bedingungen im täglichen Leben selten erfüllt seien, kann ich nicht zugeben. Beim trocknen Fegen des Fußbodens, beim Bürsten und Klopfen der Kleidung, der Teppiche und Decken, beim Spielen der Kinder auf dem Fußboden wird immer auch feinster flugfähiger und gegebenenfalls Bazillen mit sich führender Staub in nicht geringer Menge aufgewirbelt.

Die Bedingungen der Verstäubung ausgehusteter Tröpfchen werden zurzeit von mir noch genauer untersucht. Schon jetzt glaube ich nach den Ergebnissen so viel sagen zu können, daß die Hustentröpfchen

schnell trocknen, ohne anscheinend die Bazillen ernstlich zu schädigen, daß sie sich durch mechanische Erschütterungen, Klopfen, Bürsten oft leicht von ihrer Unterlage ablösen lassen, und dabei in feinsten flugfähigen Staub übergehen können, und daß endlich mit solchem Staub eine Inhalationsinfektion, zum Teil direkte Lungeninfektion der dem Staub exponierten Meerschweinchen gelingt. Eine Fixierung der Tröpfchen auf der Unterlage findet nur unter gewissen in der Praxis nicht häufig gegebenen Bedingungen statt.

Ohne Zweifel vermindert das Absterben der Bazillen während längerer Trocknung die Infektionsgefahr. Aber vergessen wir nicht, daß die sich lichtenden Reihen des Feindes täglich durch frische Kräfte ersetzt werden.

Bezüglich der Untersuchungen von Staub in der nächsten Umgebung von Phthisikern möchte ich nur auf die großen Schwierigkeiten verweisen, auf diesem Wege zu eindeutigen Ergebnissen zu kommen.

Meine Untersuchungen sprechen dafür, daß die Einatmung bazillenhaltigen Staubes durch den Menschen nicht nur eine sehr gefährliche, sondern auch eine sehr häufig wirksame Infektionsart ist, und zwar hauptsächlich deswegen, weil die feinsten in der Natur vielfach beobachteten Staubteilchen, eingeatmet, tief in die Lungen hinein eindringen, nach dem Ausfall des Tierexperimentes auch beim Kinde wahrscheinlich einzelne wenige mit trocknem Staub eingeatmete Tuberkelbazillen die Lungen primär infizieren können und in der Praxis Gelegenheit zur Bildung feinen, flugfähigen bazillenführenden Staubes häufig gegeben ist.

Schluß.

1) Die Tröpfcheninfektion kommt zweifellos unter natürlichen Bedingungen vor. Daß sie aber eine überragende Bedeutung hat, habe ich aus früheren und aus meinen eigenen experimentellen Untersuchungen nicht feststellen können.

2) Die größere Bedeutung bei der aerogenen Uebertragung der Tuberkulose kommt nach meiner Ueberzeugung der Staubinfektion zu. Diese scheint nicht allein ihren Ausgang zu nehmen von angetrocknetem Sputum, vielmehr ganz besonders auch von den überall hin verstreuten Hustentröpfchen des Phthisikers.

3) Sollte sich diese letzte Annahme durch weitere Untersuchungen bestätigen, dann muß bei der Bekämpfung der Tuberkulose neben strenger Beachtung der von Flügge und Cornet gegebenen Richtlinien auch die Beseitigung bzw. Herabminderung der von den ausgehusteten bazillenhaltigen Tröpfchen nach ihrem Trocknen ausgehenden Infektionsgefahr mit allen Mitteln angestrebt werden.

---

5. Demonstration. Claus Schilling (Berlin):

Eine spezifische Reaktion bei der Tuberkulose des Meerschweinchens.

Wie in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. S. 417 näher ausgeführt, reagiert der Dünndarm tuberkulöser Meerschweinchen auf einen

wässerigen Auszug aus Tuberkelbazillen in spezifischer Weise mit Kontraktion. Redner demonstriert den dazu notwendigen Apparat, der auf einer Modifikation der Schultz-Daleschen Methode beruht. Größte Sorgfalt, namentlich in bezug auf Herstellung der Thyrodelösung ist notwendig, um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten. Die Anordnung gestattet eine exakte Unterscheidung von humaner und boviner Tuberkulose (s. Dtsch. med. Wsch. 1924. Nr. 21). Alttuberkulin, tuberkulösen Meerschweinchen intrakutan eingespritzt, hebt die Empfindlichkeit des Dünndarmes auf, bei subkutaner Einverleibung aber nicht; vielleicht können diese Beobachtungen zu einer exakten Titration des Alttuberkulins verwendet werden.

Aussprache (zu den Vorträgen 1—5).

Küster (Oberursel): siehe Nr. 42, Seite 294*.

Schnürer (Wien): Vor 2 Jahren habe ich in Würzburg über die Nachprüfung der Angaben Dr. Dostals-Wien berichtet, der behauptet, daß er Tuberkelbazillen auf saponinhaltigem Nährboden in nicht säurefeste, bewegliche, Sporen tragende Stäbchen umgewandelt habe. Meine damaligen Untersuchungen hatten ergeben, daß es sich bei dieser Umwandlung wahrscheinlich um eine Verunreinigung mit einem Stäbchen der Subtilis-Mesentericusgruppe handeln dürfte. Seither sind diese Versuche durch Dr. Werner in Graz fortgesetzt worden und die bisherigen Ergebnisse, allerdings nur an einem Geflügeltbcstamme gewonnen, scheinen dafür zu sprechen, daß gewisse saponinhaltige Nährböden doch Veränderungen der Tb-Bazillen erzeugen können, die man keineswegs ausschließlich als Verunreinigung ansprechen kann. Ich bin natürlich noch weit davon entfernt, von einer Bestätigung der Dostalschen Befunde zu sprechen, und habe diese Bemerkungen nur deshalb hier gemacht, weil in der Nr. 51 der Dtsch. med. Woch. 1924 drei japanische Autoren aus Osaka über vollständig gelungene Versuche der Umwandlung der Tb-Bazillen auf Saponinnährböden in nicht säurefeste und deren Rückverwandlung in säurefeste berichtet hatten.

Sachs (Heidelberg) berichtet über Untersuchungen von Dr. Werner Dölter über die Wassermannsche Tuberkulosereaktion unter Verwendung des von Riedel bezogenen Antigens. Die Ergebnisse waren in bezug auf Tbc verhältnismäßig charakteristisch, aber wenig empfindlich. Es wurden bei der Beurteilung nur vollständige oder fast vollständige Hemmungen (++++ und +++) als positiv gewertet. Von 139 Tbc-Seren reagierten 28 Proz. positiv, 5,7 Proz. zweifelhaft. Von 435 Seren, bei denen Angaben über das Bestehen einer Tuberkulose nicht vorhanden waren, reagierten 3,45 Proz. positiv und 3,45 Proz. zweifelhaft. Ein Vergleich von Wa-positiven und Wa-negativen Seren der Kontrollen ergab von ersteren 9,1 Proz., von letzteren 2,5 Proz. positive Resultate.

Das Beladen mit Lezithin erwies sich zwar nicht immer, aber im Interesse der Empfindlichkeit erforderlich. Ohne Lezithin trat eine mehr oder weniger erhebliche Abschwächung ein. Bei einer biologischen Prüfung der Komponenten des Lezithins, die von den Tbc-Bazillen gebunden werden, zeigte es sich, daß im wesentlichen die an und für sich hämolytische Komponente, weniger die Kobragift aktivierende, eine Abnahme erfährt.

Die Tbc-Komplementbindung erwies sich bei Temperaturerniedrigung abgeschwächt. Bei 0° war sie immer negativ, bei Zimmertemperatur war eine mehr oder weniger starke Abnahme der Komplementbindung zu verzeichnen. Ob diese Abhängigkeit von der Temperatur unter Berücksichtigung der Untersuchungen von Sachs, Klopstock und Takenomata mehr für die Interferenz einer Labilitätsreaktion spricht, soll zunächst dahingestellt bleiben.

Uhlenhuth (Freiburg i. B.): Es ist nach unseren Beobachtungen richtig, daß auch nach Vorbehandlung mit abgetöteten Tuberkelbazillen normale Meer-

schweinchen so umgestimmt werden können, daß sie intrakutan eine Tuberkulinreaktion zeigen (Boecker). Wir haben das aber auch — nach Versuchen mit Dr. Yu — nach Vorbehandlung mit abgetöteten Typhus- und Coli-Bazillen, wenn auch nicht regelmäßig, beobachten können. Ebenso, aber auch nicht regelmäßig, gelang es nach Vorbehandlung mit Organextrakten von normalen Meerschweinchen, Leber. Milz usw.

Die interessanten Untersuchungen von B. Lange, die einer eingehenden Nachprüfung bedürfen, ändern meiner Ansicht nach zunächst nichts an der hervorragenden Bedeutung der Tröpfcheninfektion, wie sie durch die grundlegenden Versuche von Flügge und seiner Schüler in einer Lebensarbeit als wichtigste Infektionsquelle experimentell festgelegt ist.

Ich vermisse in dem Vortrag von Lange das Eingehen auf die Versuche von Chaussé, der unter natürlichen Verhältnissen die Bedeutung der Staubinfektion studiert hat. Er hielt Meerschweinchen längere Zeit in einem von Schwindsüchtigen bewohnten Zimmer, und zwar so, daß sie gegen Anhusten und Kontaktinfektion geschützt waren. Die Tiere erkrankten nur dann, wenn die Käfige mit den Meerschweinchen unmittelbar am Boden standen; schon in einer Höhe von 1 m über dem Fußboden erkrankten die Tiere nicht oder nur ganz ausnahmsweise. Daraus geht hervor, daß flugfähiger Staub sich unter natürlichen Verhältnissen nur sehr selten über einen Meter erhebt und daß die Staubinfektion bei Erwachsenen selten vorkommen wird, Kinder dagegen, die am Boden spielen, stark gefährdet sind. Daß nicht nur mit ausgeworfenem Sputum die Tuberkelbazillen auf den Boden kommen, sondern auch mit verspritzten Hustentröpfchen, ist klar und auch von anderen Forschern hervorgehoben (Flügge, Bräuning u. a.).

Solche auf dem Boden angetrocknete Bazillen sind zweifellos auch weniger virulent als die mit Hustentröpfchen ausgeschiedenen und direkt eingeatmeten, auch sind viele von ihnen abgestorben, besonders diejenigen, die in den feinsten Hustentröpfchen schnell antrocknen. Die Infektion erfolgt wohl meist durch Inhalation, seltener durch Kontakt (Schmierinfektion), wozu ja auch noch viel größere Dosen notwendig sind.

Für die praktische Bekämpfung bleibt meiner Ansicht nach alles beim alten. Nach wie vor ist die Hauptgefahr — die Tröpfcheninfektion — zu verhüten (Abstand halten, Kopf abwenden, Hand vorhalten!), und nach wie vor ist auch die Staubgefahr zu bekämpfen. Daher täglich feucht aufwischen. Die Desinfektion von Sputum und Fußboden (Alkalysol, Parmetol, Sputamin) sollte allerdings noch mehr berücksichtigt werden. Reichliche Zufuhr von Licht und Sonne. Vorsicht mit Taschentüchern (oft wechseln, desinfizieren).

M. Knorr (Erlangen): Wir haben seit Dezember vorigen Jahres das Wassermannsche Antigen mit 200 Seren überhaupt und, da manche Sera öfters verwendet wurden, mit Serum von 186 Kranken geprüft.

Fast sämtliche Sera stammten von der Chirurgischen bzw. Inneren Univ.-Klinik. Die Kranken wurden klinisch von Herrn Dr. H. Friedrich untersucht, mit dem gleich bei Beginn der Arbeit vereinbart worden war, die klinische Diagnose mit allen Hilfsmitteln durchzuführen.

Bei der von Wassermann genau umgrenzten Wertigkeit der Reaktion, die nur dann als Versager bezeichnet werden kann, wenn sie positiv trotz nicht vorhandener aktiver Tuberkulose ausfällt, darf ich in erster Linie 23 Fälle hervorheben, wo bei klinisch sicher nicht mit einem aktiven Prozeß behafteten Kranken 16mal die Reaktion positiv und 7mal verdächtig war. Bei einem Kranken war die Reaktion 2mal positiv. In 3 Fällen (1 Ca, 1 Kropf, 1 Schädelbruch) wurde die Richtigkeit der klinischen Diagnose, die Tuberkulose ausschloß, durch die Sektion voll bestätigt.

In zweiter Linie führe ich 91 Sera an, wo bei den Spendern sicher aktive Tuberkulose (in der Mehrzahl der Fälle histologischer Nachweis aktiven tuberkulösen Gewebes, ferner positiver Tierversuch oder Bazillenbefund) vorhanden war. 52mal war die Reaktion positiv, 11mal verdächtig und 28mal negativ. 11mal konnte von Kachexiereaktion bei diesen negativen Ausfällen gesprochen werden.

Als Unterabteilung, wo nur rein klinisch von aktiver Tuberkulose gesprochen werden konnte, erwähne ich 18 Fälle, von denen 10 positiv, 1 verdächtig und 7 negativ waren. In voller Uebereinstimmung mit dem klinischen Befund und dem Ausfall sämtlicher Untersuchungsmethoden war die Reaktion in 68 Fällen negativ.

Somit kann bei scharf umgrenzter Bewertung unter Zugrundelegung aller

Fälle von einem Versagen nur in 8 Proz. gesprochen werden; allerdings waren von 109 aktiven Tuberkulosen nur 74 positiv oder verdächtig.

Erwähnenswert ist, daß in 3 Fällen von Hodgkinscher Krankheit die Reaktion stark positiv ausfiel, was bei der noch ungeklärten, aber auf Tuberkulose hinweisenden Aetiologie der Erkrankung bedeutungsvoll ist.

Inwieweit Sera, die mit Luesextrakt binden, auch mit dem Wassermannschen Tuberkuloseantigen reagieren, muß vorläufig nach unseren Untersuchungen noch unentschieden gelassen werden. Es ist nicht richtig, Luetikersera mit dem Wassermannschen Tuberkuloseantigen zu prüfen, ohne wirklich alles getan zu haben, um Tuberkulose auszuschließen. Gerade die Prostituiertensera werden öfters mit beiden Antigenen positiv sein, da ja bei Prostituierten auch Tuberkulose häufig vorkommt. Ueber die Notwendigkeit der Reaktion und ihre klinische Brauchbarkeit möchte ich das Urteil den Klinikern überlassen.

Zur Technik bemerke ich, daß wir ebenso wie Silberstein schnelles Nachlösen und früher nicht so scharfe Ausfälle der Reaktion beobachteten wie mit den in letzter Zeit gelieferten Antigenen.

Ablehnende Urteile der Reaktion werden nach meiner Ansicht wohl eingeschränkt werden müssen, wenn man berücksichtigt, daß die Wassermannsche Tuberkulosereaktion an die Reagentien bedeutend höhere Anforderungen stellt als die Luesreaktion.

Wünschenswert wäre die Einführung mehrerer und polyvalenter Antigene, auch bovinen Typs, besonders mit Rücksicht auf die kindlichen Tuberkulosen, wofür sich auch Blumenthal ausgesprochen hat.

E. Jacobsthal (Hamburg): Bei der Wassermannschen Tuberkulosereaktion sehen wir, daß die Antigene offenbar ganz verschieden sein können. Es ist wahrscheinlich nicht nur das Tetralin zur Extraktion, das verschieden ist, sondern von vornherein kann es der verschiedene Wassergehalt der Tuberkelbazillen sein, der die Extraktion durch das Tetralin mehr oder weniger erschwert. Das Trocknen der Bazillen auch im Exsikator ist keineswegs leicht und erfordert viele Wochen. Nur dann, wenn das Wasser völlig aus den Bazillen heraus ist, sind sie als ein kaum sichtbarer Hauch am Boden des Gefäßes zu sehen; anderndfalls bilden sie eine trübe, graue Masse, weil das Tetralin nicht völlig in die Bazillenleiber eindringen kann. Ich habe in neuerer Zeit mich eines kleinen Kunstgriffes bedient: ich habe die schon im Exsikkator vorgetrockneten Bazillen von der Einwirkung des Tetralins mit Anilinöl behandelt, und dieses durch mehrmaliges Waschen mit Tetralin wieder entfernt.

Für die Beurteilung der Ergebnisse der Tuberkulosereaktion ist es sehr wichtig, daß Kliniker und Serologe zusammenarbeiten, und die Fälle mit allen möglichen Hilfsmitteln durchuntersucht werden. Denn der Begriff „aktive Tuberkulose" ist sicherlich viel zu unbestimmt. Solche Arbeit habe ich gemeinsam mit den Herren Brückner in St. Georg und Müller in Langenhorn geleistet. Technisch haben wir zum Teil mit viel größeren Antigenmengen und Serumkonzentrationen gearbeitet, als sie in der Originalarbeit angegeben worden sind. Aber trotz aller Mühe ist es uns nicht gelungen, die Grenzen der Reaktion so zu verschieben, daß nun tatsächlich alle klinischen Tuberkulosen erfaßt wurden, und gleichzeitig die Spezifität der Reaktion erhalten blieb. Schätzungsweise hatten wir:

Sichere aktive Tuberkulosen mit negativer Serumreaktion 33 Proz.

Sicher tuberkulosefreie (soweit es klinisch überhaupt möglich ist, Tuberkulosefreiheit festzustellen) mit positiver Serumreaktion 25 Proz.

Die übrigen Fälle stimmten mit der Klinik überein.

Pribram (Wien): Die interessanten Untersuchungen Ferráns hätten noch vor wenigen Jahren heftigen Widerstand gefunden. Heute können wir uns der Tatsache nicht verschließen, daß von verschiedenen Autoren immer wieder gelegentlich das Mycob. tuberculosis seiner säurefesten Eigenschaften beraubt werden kann und daß dann die Kulturen rascher wachsen. — Wenn die Nachuntersuchungen bisher immer negative Resultate ergaben, so können wir uns doch der Ueberzeugung nicht verschließen, daß dies daran liegt, daß wir die Bedingungen nicht kennen, unter welchen die Autoren die Modifikationen erzielt haben. Ferrán selbst, der seit Jahrzehnten über diese Frage arbeitet, gibt selbst an, daß die Bedingungen nicht bekannt sind, sondern daß ihm gelegentliche Modifikationen gelingen. Wir müssen also weiter in dieser Richtung arbeiten. Vielleicht gelingt die Modifikation nur mit bestimmten Kulturen.

Ferrán faßt noch einen wichtigen Punkt scharf: Die Tuberkelbildung können

wir nicht bekämpfen, weil sie nicht durch Eiweißgifte entsteht; wir brauchen sie auch wegen ihrer relativen Harmlosigkeit nicht zu bekämpfen. Gegen das Bakterienprotein der Tuberkelbakterien aber können wir durch Jmmunisierung anzukämpfen versuchen. Ferrán tut dies mit seinem Prädikat „Antialpha".

W. F. Winkler (Rostock): Besser als die Schloßberger und der meisten Vorredner sind unsere Ergebnisse mit der Wassermannschen Tuberkulosereaktion. Diese konnten aber nur bei Abänderung der Originalmethode gewonnen werden, die in Verwendung gealterter Antigene in verschiedenen Dosen und Bindung je $^3/_4$ Stunde im Brutschrank und bei Zimmertemperatur bestand. Physikalisch, röntgenologisch und meist durch Bazillenfund gesicherte aktive Tuberkulöse waren in $^3/_4$ der Fälle positiv, sonstige Kranke außer vereinzelten seropositiven Luetikern und Gesunde immer negativ. Das letzte Wort über den Wert der neuen Methode sprechen jahrelange klinische und serologische Beobachtungen und eventuell pathologisch-anatomische Befunde bei Tuberkuloseverdächtigen. — Die serodiagnostischen Methoden von Mátéfy und von Bonacorsi erwiesen sich praktisch als unbrauchbar.

U. Friedemann (Berlin): Komplementbindung bei Tuberkulose.

An mehreren hundert Fällen konnten mit dem Besredka-Antigen folgende Resultate gewonnen werden:

1. Aktive Tuberkulosen reagieren im allgemeinen positiv.
2. Nicht Tuberkulöse reagieren im allgemeinen negativ.
3. Nur in einem Fall wurde eine stark positive Reaktion erzielt, obwohl die Sektion die völlige Abwesenheit von Tuberkulose ergab. Vielleicht handelte es sich um einen Fall von Lues mit negativem Wa. Wa-positive Sera reagieren häufig, aber nicht immer mit dem Besredka-Antigen.
4. Die negativ reagierenden Sera von aktiv Tuberkulösen umfassen drei Gruppen:
   a) Kachektische.
   b) Kindertuberkulosen.
   c) Eine akute großknotige Tuberkulose bei einem Inder.

Es scheint danach, daß die Komplementbindungsreaktion bei der primären, akuten Tuberkulose nicht auftritt, sondern nur bei der sekundären, allergischen Form der Tuberkulose, wie sie bei uns bei Erwachsenen fast ausschließlich vorkommt.

5. Konnten in den beiden Gruppen der sicher Tuberkulösen und der sicher Tuberkulosefreien die Angaben Besredkas im wesentlichen bestätigt werden, so waren die Resultate in der praktisch wichtigsten Gruppe der klinisch zweifelhaften Fälle weniger günstig, besonders für die Diagnose der inzipienten Phthise erwies sich die Komplementbindungsreaktion der klinischen Untersuchung nicht überlegen. Dagegen erwies sich die Reaktion in differentialdiagnostisch schwierigen Fällen (Pleuraexsudate, Drüsengeschwülste, käsige Pneumonien nach Masern und Grippe u. a.) als sehr wertvoll. In einer Reihe derartiger Fälle gelang es nur, mittels der Komplementbindungsreaktion die Diagnose zu stellen.

6. Die Komplementbindungsreaktion ist deshalb innerhalb der angegebenen Grenzen als eine wertvolle Bereicherung der Diagnostik zu betrachten.

Reichenbach (Göttingen): Eine definitive Stellungnahme zu den Ausführungen des Herrn Lange und erst dann möglich sein, wenn die experimentellen Untersuchungen in allen Einzelheiten vorliegen. Soweit ich es übersehen kann, scheint mir die Sache aber so zu liegen, daß Herr Lange einige neue Momente für die Gefährlichkeit des Staubes beigebracht hat, daß aber irgendwelche neuen Einwände gegen die Bedeutung der Tröpfcheninfektion nicht vorgebracht sind. Es wird sich also vielleicht, wenn sich die experimentellen Untersuchungen voll bestätigen sollten, unsere Ansicht dahin ändern müssen, daß der Staub etwas gefährlicher ist, als wir bisher angenommen haben. Die entscheidende Bedeutung wird aber die Tröpfcheninfektion auch dann immer behalten.

Haendel (Dahlem): Zu dem Vortrage des Herrn Schloßberger möchte ich nur kurz auf Untersuchungen hinweisen, die von L. Lange und Heuer mit der Tuberkulosereaktion nach v. Wassermann ausgeführt wurden. Diese Untersuchungen haben insofern zu günstigeren Ergebnissen wie die bisher angegebenen

geführt, als unspezifische Reaktionen dabei nicht beobachtet wurden. Allerdings war auch der Prozentsatz der positiven Reaktionen dabei geringer, als hier angeführt. In seltenen Ausnahmefällen hat sich jedoch ein anderer Umstand störend bemerkbar gemacht, indem einzelne Sera bei gleichzeitiger Untersuchung an mehreren Stellen nicht ganz übereinstimmende Resultate ergeben haben. Eine Verbesserung der Reaktion erscheint deshalb erwünscht. Herr v. Wassermann hat uns auch ein verbessertes Antigen bereits zur Verfügung gestellt, mit dem zurzeit Untersuchungen im Gange sind, doch kann über deren Ergebnisse eine abschließende Mitteilung noch nicht gemacht werden.

Bruno Heymann (Berlin): Die bedeutsamste Behauptung von Herrn Lange, daß sich nämlich aus den angetrockneten Hustentröpfchen flugfähige und infektionstüchtige Stäubchen in erheblichem Maße ablösen können, scheint mir vorläufig nicht genügend gestützt zu sein. Aber auch wenn sich dies im Verlaufe weiterer Versuche bestätigen sollte, so würde es keinen Abbau der Flüggeschen Tröpfchenlehre, sondern im Gegenteil ihren weiteren Ausbau bedeuten, der durchaus in der Linie früherer, unter Flügges Leitung entstandener Arbeiten (z. B. von Beninde, Kirstein u. a.) läge. Auch Langes eigene Untersuchungen dürften wohl auf Anregungen aus seiner Assistentenzeit bei Flügge zurückgehen. Jedenfalls ist Vorsicht in der Kritik der Tröpfchenlehre geboten, damit nicht die leider nur sehr langsam ins Volksbewußtsein eindringende Kenntnis von der Gefährdung der Umgebung durch rücksichtslos verschleuderte Hustentröpfchen wieder von der ungemein populären, meist übertriebenen Furcht vor Staub völlig verdrängt werde.

A. Reinhardt (Leipzig): Bei meinen seit ca. 8 Jahren unternommenen Versuchen, eine für das Laboratorium brauchbare serodiagnostische Methode bei Tuberkulose (Komplementbindungs- oder Flockungsreaktion) zu finden, habe ich — ausgehend von der Ueberlegung, daß die Antigene möglichst viel extrahierbare Substanzen der Tuberkelbazillen, deren Stoffwechsel- und Zerfallsprodukte, ferner Lipoid- und Eiweißsubstanzen aus dem tuberkulös veränderten Gewebe enthalten sollten, solche aus tuberkulös erkrankten Organen menschlicher Leichen hergestellt. — Die bisher besten Resultate erzielte ich mit einem vor $2^1/_2$ Jahren aus Material einer Phthisis tuberculosa renalis hergestellten Extrakt. (NB. Extrakt mit Aethyl- und Methylalkohol aus der getrockneten, pulverisierten, ätherentfetteten Substanz hergestellt.) Die hiermit erzielten Resultate sind einigermaßen zufriedenstellend, so daß ich den Standpunkt Schloßbergers bezüglich der Bewertung der Reaktion für die Praxis nicht teilen kann.

Der Lipoidgehalt des verwendeten Extraktes spielt indes eine wesentliche Rolle; Luetikersera mit positivem Wassermann geben in der Regel auch stark positiven Ausfall der Tuberkulosekomplementbindungsreaktion. Es wird daher jedes auf Tuberkulosekomplementbindung zu untersuchende Patientenserum auch nach Wassermann geprüft, ferner, soweit möglich, nach Besredka usw. kontrolliert. Es wird nur ! ein deutlich positiver Ausfall +++ und ++++, eventuell in besonderen Fällen noch ++ bei negativem Wassermann diagnostisch verwertet. Der diagnostische Wert der Reaktion tritt bei einer großen Serie untersuchter sicherer und verdächtiger Fälle zutage. Mehrfach war ich in der Lage, die Untersuchungsbefunde durch Sektion, histologische Untersuchungen usw. zu bestätigen.

Brauchbare Resultate erhielt ich mit der Komplementbindungsreaktion bei sicheren Fällen von Lungentuberkulose (Spitzentuberkulose und vorgeschrittene Phthisen), während alte Fälle und stärker mischinfizierte Phthisen i. g. schlecht oder negativ reagierten. Sera von Miliartuberkulosefällen reagieren im allgemeinen gut. Bei tuberkulöser Meningitis hemmt der Liquor oft stark. Ein Fall von Addisonscher Krankheit reagierte mit ++. Die untersuchten Fälle von Lymphknotentuberkulose, tuberkulöser Pleuritis, Peritonitis usw. reagierten vielfach mit ++ und +++. Bei Tuberkulose der Gelenke, der Knochen, Weichteile usw. mehrfach gute Resultate; in einem Falle von tuberkulöser Analfistel ++++. Wichtig ist die Reaktion bei Lupus und sonstiger Hauttuberkulose, hier zum Teil in Differentialdiagnose mit Lues; ich habe mehrere Fälle von Hauttuberkulose mit +++ und ++++ zu verzeichnen bei negativem Wassermann. — Besonders wichtig erscheint mir für die Klinik ein seropositiver Ausfall +++ und ++++ bei fraglichen Fällen, wo zunächst die üblichen diagnostischen Untersuchungsmethoden und auch der Tuberkelbazillennachweis versagen; solche Fälle waren bei meinen Untersuchungen z. B. Genitaltuberkulose?, tuberkulöse? oder luetische? Periostitis, tuberkulöse? oder luetische? Meningitis, tuberkulös? ver-

dächtige Brustschmerzen, Lungentuberkulose? oder Lungentumor?, Spitzentuberkulose?, Miliartuberkulose? oder Sepsis?, Bronchitis?, Lupus?, oder Lues oder Psoriasis der Haut?

M. Neisser (Frankfurt a. M.): Bei jedem explosionsartigen Husten oder Nießen müssen viele Tröpfchen entstehen, die aus reinem Wasser bestehen und mit dem Schleimbelage der Luftwege nichts zu tun haben — wie beim Oeffnen einer Bierflasche außer Nebelbildung auch Verstreuung größerer Tröpfchen erfolgt, die nicht Bier sind. In beiden Fällen wird wasserdampfgesättigte Luft, die unter Druck stand, plötzlich ausgedehnt, und hierzu kommt beim Menschen noch die Temperaturdifferenz zwischen Umgebung und Ausatmungsluft. Das ändert nichts an dem Vorkommen und der Bedeutung der Tröpfcheninfektion, aber es besteht die Pflicht, mehr als bisher die wirklichen „Tbc-Streuer" festzustellen.

Haim (Hamburg): Die Nachprüfung der Wassermannschen Tuberkulosereaktion im Eppendorfer Krankenhaus durch Mylius ergab nicht die Möglichkeit, auf diese Weise auch nur annähernd aktive von inaktiver Tuberkulose zu scheiden. Es fehlte nicht nur etwa in der Hälfte der in enger Zusammenarbeit mit der Brauerschen Klinik untersuchten Fälle der positive Ausfall bei klinisch sicher aktiv Tuberkulösen, sondern es war auch bei einer größeren Anzahl von inaktiv Tuberkulösen bzw. völlig Gesunden die Reaktion positiv, darunter bei 5 Säuglingsseren (Nabelschnurvenenblut). Sehr störend machte sich die häufig angetroffene Selbsthemmung der Seren bemerkbar, die durch die geforderte scharfe Einstellung des hämolytischen Systems verursacht war. Unterschiede, wie sie im Vorhergehenden Haendel anführte, erklären sich vielleicht aus einer Verschiedenheit der benutzten Antigene. So fanden wir in zwei Antigenmengen entgegen den Angaben v. Wassermanns ziehlfärbbare Stäbchen in größerer Zahl. Es wird sich empfehlen, vor Benutzung der Antigene sich von der Abwesenheit säurefester Stäbchen durch einen Ausstrich zu überzeugen und im gegebenen Falle das Antigen von der Benutzung auszuschließen. Zahlreiche Nachprüfungen mit vielen anderen Antigenen (Besredka, Boquet-Nègre, Deycke-Much u. a.) haben es nie erlaubt, aktive Tuberkulose von inaktiver mit dem Komplementbindungsverfahren zu trennen.

Kolle (Frankfurt a. M.): Die Erkennung der Tuberkulose auf serologischem Wege würde nur dann praktische Bedeutung haben, wenn ein positives Ergebnis auch wirklich sicher beweisend wäre für die Tuberkulose. Das ist aber mit allen bisher angewandten Methoden nicht erreicht worden. Es reagieren sicher auch Patienten, die an Tuberkulose klinisch erkrankt sind, negativ, andererseits solche, die an anderen Krankheiten leiden, positiv. Derartig unspezifische Reaktionen, die sich namentlich bei den lezithinhaltigen Antigenen finden, sind aber bei der Tuberkulosediagnostik noch viel störender, als sie es bei der Syphilisdiagnostik sind. Denn man muß sich doch stets vor Augen halten, daß die Tuberkuloseinfektion bei sehr vielen Menschen sich findet, und daß die Anwesenheit von tuberkulösen Herden im Körper absolut noch nicht der Grund für klinische Symptome oder manifeste Erkrankung zu sein braucht. Die Komplementbindungsmethoden, die bisher bekannt sind, können kaum als Ergänzung der anderen tuberkulosediagnostischen Verfahren, die wir besitzen, eine wesentliche Rolle spielen. Denn die meisten Erkrankungen, die auf Tuberkulose beruhen, lassen sich, sei es durch die Sputumuntersuchung, den physikalischen Befund, das Röntgenbild oder die klinische Beobachtung, feststellen. Nur bei der Kindertuberkulose sind die Schwierigkeiten vielleicht größer, und hier wäre ein serologisches Verfahren, das wirklich für Tuberkulose spezifisch wäre, d. h. bei dem die unspezifischen Reaktionen ausfielen, von größter Bedeutung. Besonders hinweisen möchte ich noch auf die Tatsache, daß sehr gute Resultate von uns erhalten wurden mit den lezithinhaltigen Antigenen, auch solchen, die aus sog. saprophytischen säurefesten Bazillen hergestellt wurden. Die Zahl der positiven Reaktionen ist hier geringer, aber es sinkt auch die Zahl der unspezifischen.

Lührs (Berlin): Nach Erinnerung an die ausgedehnten Arbeiten seines Mitarbeiters Dr. Richters über die verschiedenen Extrakte, die aus den verschiedenen Typen des Tuberkelbazillus hergestellt wurden, und Besprechung der Resultate der

Serodiagnostik beim Rind, die als ausgezeichnet und spezifisch anzusehen sind, teilt L. Erfahrungen über ähnliche Untersuchungen beim Rotz mit. Aktive und latentkrank tuberkulöse Tiere von Tieren, die mit abgetöteten Tb-Bazillen vorbehandelt waren, zu unterscheiden, gelang mit Hilfe des Wassermann-Extraktes I und II ebensowenig, wie der Versuch, rotzkranke von malleinisierten Pferden durch diese Untersuchungsmethode zu trennen. Weiterhin gab L. bekannt, daß Koch- und Alkoholschüttelextrakte aus Rindertuberkelbazillen sich vorzüglich als Antigen eignen, wenn dabei einige Kunstgriffe beachtet werden. Extrakte aus unspezifischen, säurefesten Stämmen hergestellt, versagen bei der Einstellung gegen Tiersera, wie Richters nachgewiesen hat. Die allergischen und durch Komplementbindung nachweisbaren Stoffe scheinen ebenso wie beim Rotz etwa 10 Tage nach der Infektion aufzutreten und sind leicht nachweisbar. Mit Hilfe der einzelnen Extrakte gelingt die Diagnose mit großer Sicherheit beim Rind, Pferd und Hund, Schwierigkeiten treten beim Kaninchen auf, die sich beim Meerschweinchen erhöhen und beim Geflügel sich zur Unmöglichkeit gestalten. Vergleiche zwischen Mensch und Tier bei der Anwendung des serodiagnostischen Verfahrens zu ziehen, ist nicht angängig.

Meinicke (Ambrock): Herr Kolle hat die Anschauung vertreten, daß im Vergleich zu den Luesreaktionen eine Tuberkulosereaktion von vornherein keine so große Bedeutung haben würde, weil die Zahl derjenigen Fälle, bei denen man mit der klinischen Untersuchung allein nicht zu einem Urteil gelange, im Gegensatz zu den Verhältnissen bei Syphilis nur sehr klein sei. Das mag bis zu einem gewissen Grade für die Tuberkulose der Erwachsenen gelten, bei der tatsächlich die neuen klinischen Methoden, namentlich die Röntgenuntersuchung einen großen Teil der Fälle klärt. Es gilt aber nicht für die Kindertuberkulose. Diese ist klinisch außerordentlich schwer zu diagnostizieren. Die diesjährige Koburger Tagung der Tuberkuloseärzte brachte in dieser Beziehung sehr pessimistische, um nicht zu sagen: nihilistische Referate. Also an der enormen praktischen Bedeutung, die einer brauchbaren Reaktion auf aktive Tuberkulose zukommen würde, ist nicht zu zweifeln. Etwas eingeschränkt wird diese Bedeutung nur durch zwei Momente: Einmal gibt jede derartige Reaktion nur Auskunft über den augenblicklichen Stand der Erkrankung, der sehr bald nach der guten oder schlechten Seite umschlagen kann und dann wieder ganz andere Reaktionsverhältnisse bietet. Man erhält also immer nur einen kleinen Ausschnitt aus dem viele Jahre oder sogar Jahrzehnte währenden Krankheitsverlauf. Und zweitens wird die praktische Bedeutung für unser Handeln erfreulicherweise etwas dadurch eingeengt, daß gerade die Tuberkulosen des Kindesalters oft sehr zur Heilung neigen und daher vielfach ohne jede besondere Behandlung zum Stillstand kommen. Abgesehen von diesen kleinen Einschränkungen kann aber kein Zweifel sein, daß einer brauchbaren Tuberkulosereaktion eine eminente praktische Bedeutung zukommen würde.

Bruno Lange (Schlußwort): Es ist mir nicht möglich, hier auf alle Einwände gegen den Inhalt meines Vortrags einzugehen, ich verweise auf die ausführlichen Mitteilungen unserer Versuche, die in der „Zeitschrift für Hygiene“ erscheinen werden. Zu einigen besonders wichtigen Punkten muß ich aber doch Stellung nehmen.

Es ist gesagt worden, sowohl durch die künstlichen Inhalationsexperimente wie auch im besonderen die Versuche mit Anhusten von Meerschweinchen durch Phthisiker sei die überragende Bedeutung der Tröpfcheninfektion hinreichend nachgewiesen.

Demgegenüber muß ich noch einmal darauf hinweisen, daß Inhalationsexperimente mit dem Buchner-Spray für die Frage der Ansteckung durch Einatmung von Hustentröpfchen unter natürlichen Bedingungen nur mit größter Vorsicht zu verwerten sind. Was die Versuche von Heymann und Hippke betrifft, Meerschweinchen durch Anhusten zu infizieren, so erinnere ich daran, daß bei der Hälfte der Hippkeschen Versuchstiere mit positivem Befund sichere Zeichen einer Kontaktinfektion festgestellt wurden; dagegen sind primäre Lungeninfektionen der Tiere anscheinend nur selten von Hippke beobachtet worden; aus seinen Protokollen ist leider nicht mit Sicherheit zu ersehen, ob überhaupt Tiere durch Anhusten eine primäre Infektion der Lungen erworben haben. Und auf diesen Nachweis kommt es doch an, denn die Entstehung von Kontaktinfektionen z. B. von der Augenbindehaut aus ist

doch nichts Merkwürdiges, wenn wir berücksichtigen, daß den Tieren Tausende von Bazillen ins Gesicht geschleudert wurden.

Die Versuche von Chaussé mit Meerschweincheninfektionen durch Staub von Phthisikerwohnungen habe ich aus Mangel an Zeit nicht erwähnen können. Gegen die Flugfähigkeit feinen bazillenhaltigen Staubes beweisen diese Versuche nichts. Daß eine Aufwirbelung auch feinsten bazillenhaltigen Staubes in der Praxis recht oft vorkommt, geht aus einer Reihe anderer Experimente aufs deutlichste hervor. Ich erinnere nur an die schönen Versuche von B. Heymann aus dem Jahre 1901. Nach dem gewöhnlichen Aufräumen eines mit Phthisikern stark belegten Zimmers konnten auf dem im Zimmer stehenden Tisch durch den Tierversuch Tuberkelbazillen nachgewiesen werden. Der Staub des Tisches vor dem Aufräumen hatte sich als tuberkelbazillenfrei erwiesen. Die Bazillen konnten nur mit feinstem flugfähigen Staub auf den Tisch gelangt sein. M. H.! Das ist nur eine Stichprobe! Um so bedeutungsvoller ist der positive Ausfall derselben.

Im Zusammenhang hiermit sind noch andere Versuche Heymanns betr. die Verbreitungsweise der übertragbaren Darmkrankheiten von großem Interesse. Aus ihnen geht hervor, daß an der Kleidung angetrocknete Keime schon allein durch das Ablegen der Kleidung abgelöst werden und sich in nicht geringer Menge durch die Luft weithin im Raum verbreiten können.

Der Behauptung gegenüber, daß die im Staub befindlichen Tuberkelbazillen im allgemeinen eine geringere Virulenz besitzen als die in Tröpfchen enthaltenen, möchte ich hervorheben, daß in zahlreichen Experimenten in trockenem Staub Tuberkelbazillen von guter Virulenz nachgewiesen worden sind.

Die Zahl der Bazillen, die mit Tröpfchen überall hin verstreut werden, ist gewiß keine sehr große, jedenfalls mit der Bazillenmenge im Sputum gar nicht zu vergleichen. Trotzdem verdienen auch diese geringeren Bazillenmengen in den angetrockneten Tröpfchen vollste Beachtung, da in meinen Versuchen mit Nowosselsky festgestellt worden ist, daß die Einatmung einzelner weniger Bazillen in die Lungen des Meerschweinchens genügt, eine primäre Lungentuberkulose hervorzurufen, und wir für das Kind in den ersten Lebensjahren eine Empfänglichkeit annehmen müssen, die derjenigen des Meerschweinchens sehr nahekommt.

Ich gebe ohne weiteres zu, daß die experimentellen Grundlagen noch nicht ausreichen, um schon heute mit Sicherheit eine größere Gefahr seitens der verstreuten und angetrockneten Hustentröpfchen anzunehmen, wenn auch manche Beobachtungen auf eine solche Infektionsgefahr hinweisen. Darum habe ich mich in dieser Hinsicht noch vorsichtig ausgedrückt.

Daß der Nachweis von Tuberkelbazillen im Staube der Wohnungen von Phthisikern nicht noch häufiger gelingt, als man bisher hat nachweisen können, liegt wohl hauptsächlich daran, daß man lediglich Staub zur Probe von denjenigen Gegenständen entnommen hat, auf welche die Bazillen auf keine andere Weise als mit feinem flugfähigen Staub hingelangen konnten. Den Fußboden z. B. hat man deswegen gar nicht oder nur in geringem Umfange untersucht. Aber gerade der Fußboden ist doch ungemein wichtig nicht nur für die Entstehung, sondern auch für die Ablagerung feinsten und gegebenenfalls bazillenhaltigen Staubes. Bei der Beurteilung von Ergebnissen der Staubuntersuchung auf Tuberkelbazillen muß diesem Sachverhalt unbedingt Rechnung getragen werden.

Was nun die praktische Bedeutung meiner Untersuchungen betrifft, so halte ich die Resultate keineswegs für belanglos.

Im Kampf gegen die Tuberkulose würde es eine wesentliche Erleichterung bedeuten, wollte man im Sinne Flügges sein Hauptaugenmerk der Gefahr der Ansteckung durch Anhusten zuwenden. Hat aber, wie ich annehme, die Tröpfcheninfektion nicht die überragende Bedeutung bei der aerogenen Verbreitung der Tuberkulose und ist die Staubinfektion von größerer Wichtigkeit, dann muß eine Abwehr gegen die Tuberkuloseansteckung auf breiterer Basis gefordert werden.

M. H.! Ich würde mich freuen, wenn meine Untersuchungen wenigstens den Anstoß dazu geben würden, die Frage der wichtigsten Verbreitungsweisen der Tuberkulose, welche nach meiner Ueberzeugung noch keineswegs geklärt ist, erneut einer gründlichen Prüfung zu unterziehen, ausgehend von der experimentellen Grundlage, deren Aufbau wir in erster Linie Flügge und seiner Schule zu verdanken haben.

2. Tag. Freitag, den 13. Juni 1924.

Vorsitzender: Sobernheim (Bern).

Referat III. F. Neufeld (Berlin):

Die Veränderlichkeit der Mikroorganismen in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie.

Seit den Entdeckungen von Jenner und Pasteur sind Veränderungen der Krankheitserreger, sowohl allmählich, wie sprungweise bekanntlich sehr vielfach zur Erklärung epidemiologischer Beobachtungen herangezogen worden, aber erst Gotschlich hat ihre große und allgemeine Bedeutung dargelegt und zum ersten Male das Werden und Vergehen der Seuchen unter dem Gesichtspunkt der Veränderlichkeit der Erreger in durchaus origineller Weise einer eingehenden Betrachtung unterzogen (D. med. Woch. 1919, S. 593). Wenn ich versuche, im folgenden einen Ueberblick über den jetzigen Stand unserer Kenntnisse auf diesem Gebiet zu geben, so scheint es mir bei der Fülle des Materials nicht zweckmäßig, etwa auf alle wichtigeren Infektionskrankheiten im einzelnen einzugehen, ich möchte vielmehr vor allem an typischen Beispielen die starken Gegensätze erläutern, die wir auf diesem Gebiet antreffen, also Beispiele geben von Seuchen, bei denen ein wesentlicher Einfluß der Variabilität des Erregers auf den Verlauf der Seuche nicht vorhanden oder zum mindesten nicht erwiesen ist, und von anderen, bei denen ein solcher Einfluß sich in der einen oder anderen Richtung deutlich dokumentiert. Es handelt sich dabei jedoch nicht um absolute Gegensätze, sondern um Abstufungen und fließende Uebergänge, genau so wie bei der Frage nach der Bedeutung der Variabilität für den Verlauf des einzelnen Krankheitsfalles; diese Frage habe ich kürzlich in einem Vortrage in der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft (D. med. Woch. 1924, S. 1) besprochen, sie ist aber nicht Gegenstand meines heutigen Berichts. Ich will mich bemühen, in meinen Darlegungen nach Möglichkeit die Hypothesen, die wir auf diesem Gebiet vorläufig kaum entbehren können, von dem, was wir als tatsächlich erwiesen ansehen dürfen, zu trennen.

Ich beginne mit den Krankheiten, deren Epidemiologie durch Veränderungen des Erregers nicht wesentlich beeinflußt zu werden scheint oder bei denen wir wenigstens keine sicheren Tatsachen kennen, die für einen solchen Einfluß sprechen. Ich nenne als Beispiele dafür von akuten Infektionen Cholera und Typhus, von chronischen Tuberkulose, von Protozoenkrankheiten Malaria. Schließlich möchte ich hierbei den Mäusetyphus besprechen, der zwar als Abkömmling einer sehr variablen Familie nur ein vorübergehend fixierter Krankheitserreger ist, aber in diesem Zustande sich recht stabil erweist; er bietet vielfache Analogien mit dem Abdominaltyphus, vor allem aber ist der Mäusetyphus auf Grund der neuesten Forschungen englischer und amerikanischer Autoren diejenige Krankheit, deren Epidemiologie experimentell am besten studiert ist.

Nun hat man ja öfter die Annahme gemacht — und schon Koch hat sich in diesem Sinne ausgesprochen — daß das Anschwellen einer Choleraepidemie durch eine Steigerung, das Absinken der Welle durch eine Abnahme der Virulenz bedingt sei, aber bestimmte tatsächliche Beobachtungen liegen darüber meines Wissens nicht vor und

wie wir sogleich beim Mäusetypus sehen werden, kann man die gleichen Erscheinungen auch ohne Virulenzveränderungen beobachten.

Beim Typhus wird der etwas verschiedene Charakter, den die Krankheit bei einzelnen Ausbrüchen zeigt, wohl mit Recht mit Veränderungen des Erregers in Zusammenhang gebracht. Im übrigen dürfen wir auch den Typhusbazillus als einen recht beständigen Krankheitserreger ansehen.

Die Malaria, sowohl die tropica wie die tertiana, verläuft in den einzelnen Ländern recht verschieden, und zwar im allgemeinen wohl um so schwerer, je stärker sie in einem Lande verbreitet ist. Im Kriege haben Kirschbaum u. a. die Aufmerksamkeit auf die schon früher von anderen Autoren beobachtete Tatsache gelenkt, daß die Tertiana-Infektion sehr oft den ganzen Winter über latent bleibt, und es stellte sich dann weiterhin heraus, daß es überwiegend Infektionen aus ganz bestimmten Gegenden waren, die diese lange Latenz zeigten. Es liegt nahe, hier eine Abschwächung der Parasiten anzunehmen, vielleicht bedingt durch eine der Entwicklung wenig günstige Temperatur oder Mückenart. Es ist möglich, daß diese Annahme richtig ist, aber ebensogut lassen sich, wie mir scheint, alle diese Beobachtungen anstatt durch qualitative durch quantitative Unterschiede erklären. Werden nur einzelne Keime eingeimpft, so entwickeln sie sich langsamer und der Körper gewinnt Zeit, spezifische Schutzstoffe zu bilden, vielleicht auch natürliche Schutzkräfte zur Wirkung zu bringen, so daß er die Eindringlinge so lange in Schach hält, bis irgendwelche Umstände das Gleichgewicht zwischen Wirt und Erreger stören.

Etwas Derartiges dürfen wir für den Verlauf der Tuberkulose wohl als sicher annehmen. Bekanntlich hat Römer behauptet, daß beim Kinde die Infektion mit massiven Dosen von Bazillen überwiegend schwere Erkrankungen auslöst, und neuere Beobachtungen aus der Praxis scheinen das zu bestätigen. Im Tierexperiment sehen wir jedenfalls, auf welchem Wege wir auch die T.-B. einführen, nach Infektionen mit kleinsten Dosen eine ausgesprochene Neigung zu langer Latenzzeit und oft einen chronischen oder sogar gutartigen Verlauf der Krankheit, und es unterliegt wohl keinem Zweifel, daß dieser Verlauf z. T. durch eine früh einsetzende spezifische immunisatorische Umstimmung des Körpers bedingt ist. Nach manchen Beobachtungen möchte ich allerdings als wahrscheinlich annehmen, daß daneben auch eine Abschwächung mitspielt, indem nämlich der Organismus die Fähigkeit besitzt, T.-B., die in nicht zu großer Anzahl z. B. durch die Schleimhaut des Rachens oder des Darmes eindringen, zum mindesten vorübergehend in ihrer Virulenz abzuschwächen; man hat ja nicht selten in Hals- und Darmdrüsen auffallend schwach virulente T.-B. gefunden. Mit einer gewissen Regelmäßigkeit schwächen sich die Bazillen in lupösen u. a. tuberkulösen Hautaffektionen ab. Da von solchen Fällen aber in der Praxis kaum Infektionen ausgehen, so sind alle diese Virulenzänderungen nur für den Verlauf des Einzelfalles, nicht für die Epidemiologie der Krankheit von nennenswerter Bedeutung.

Die Epidemiologie des Mäusetyphus ist in den letzten Jahren äußerst sorgfältigen und eingehenden Arbeiten einerseits von Topley in Manchester, andererseits von Mitgliedern des Rockefeller-Instituts in New York, insbesondere von Amoss und Webster, studiert worden; ich verweise auf meine zusammenfassende Uebersicht über

diese Arbeiten in der „Klinischen Wochenschrift“ 1924. Die genannten Autoren vereinigten größere oder kleinere Gruppen von Mäusen in verschiedener Weise zu einem „Mäusedorf“, und erzeugten unter ihnen künstlich Epidemien, indem sie kranke Mäuse oder Bazillenträger zu gesunden hinzusetzten und dann unter zahlreichen Variationen der Versuchsbedingungen den Ablauf solcher Seuchenausbrüche über Monate und Jahre hin genau verfolgten. Dabei ergab sich u. a., daß bei einer derart infizierten „Bevölkerung“, wenn man sie sich selbst überläßt, bei aller Verschiedenheit des Verlaufs im einzelnen sich schließlich eine Art „Gleichgewichtszustand“ herstellt: je nach den Versuchsbedingungen stirbt ein größerer oder kleinerer Teil der Tiere aus und wenn man die überlebenden genauer prüft. so findet man, daß ein nicht unerheblicher Teil davon chronisch krank und zu Bazillenträgern geworden ist; von den übrigen besitzt wahrscheinlich ein kleiner Teil eine ziemlich hochgradige, ein größerer Teil eine schwache Immunität, während ein anderer Teil voll empfänglich ist. Schon Danysz hatte beobachtet, daß die durch seinen Gärtner-Stamm hervorgerufenen Epidemien unter Nagetieren allmählich zum Stillstand kamen und den Grund dafür darin gesucht, daß die Erreger die Tendenz hätten, immer zu einem gewissen mittleren Virulenzgrade herabzusinken. Topley hatte diesen Gleichgewichtszustand so erklärt, daß am Ende jedes Seuchenausbruchs einerseits der durchschnittliche Resistenzgrad der überlebenden ein höherer sei als vor der Epidemie (was zweifellos zutrifft), daß andererseits aber auch der Erreger eine höhere Virulenzstufe erreicht habe: so sollten sich dann die beiden einander entgegengesetzten Kräfte wieder die Wage halten. Topley nahm also eine Virulenzsteigerung, Danysz umgekehrt eine Virulenzabnahme im Laufe einer Epidemie an; wie wir sogleich sehen werden, sind wahrscheinlich beide Annahmen falsch.

Es zeigte sich nun aber weiter, daß dieses „Gleichgewicht“ gestört wird, sobald man zu den durchseuchten Mäusen eine Anzahl frischer, voll empfänglicher zusetzt: dann flackert die anscheinend zur Ruhe gekommene Seuche wieder auf, sie befällt zuerst die neuen Tiere, greift dann aber jedesmal auch wieder auf die alten über, und wenn man nicht einmal, sondern mehrfach wiederholt immer wieder frische Mäuse hinzusetzt, so können die alten, trotzdem sie durchseucht und mindestens partiell immun sind, schließlich vollkommen aussterben. Diese Tatsache erklärt Topley in der Weise, daß die Erreger infolge der Passagen durch die voll empfänglichen frischen Tiere eine immer höhere Virulenz erlangt hätten. Auch Flexner und seine Mitarbeiter sind zunächst von der Annahme ausgegangen, gewissermaßen wie von einer Selbstverständlichkeit, daß beim Mäusetyphus starke Virulenzschwankungen vorkämen und daß diese einen entscheidenden Einfluß auf den Verlauf der Seuche hätten. Nun hat Webster diese Frage sehr eingehend an etwa 1500 Mäusen geprüft und ist dabei zu einem völlig negativen Ergebnis gekommen. Webster zog dazu 6 verschiedene Stämme der Mäusetyphus-Gärtner-Gruppe heran und verglich Kulturen, die er im Beginn und auf der Höhe von akuten Erkrankungen aus Blut oder Darminhalt züchtete, ferner desgl. aus chronischen Fällen, aus Bazillenträgern und aus Kadavern zu verschiedenen Zeiten nach dem Tode. Außerdem machte er zahlreiche Passageversuche teils mit Fütterung, teils i. per., wobei er entweder Kulturen oder Organverreibungen, Darm-

Inhalt, Blut direkt von Tier zu Tier übertrug. Die Virulenz prüfte er wiederum sowohl per os wie i. per., teils durch Uebertragung von Kultur, teils von Blut oder Darminhalt unter Benutzung abgestufter Verdünnungen. Das Ergebnis war, daß zwar die 6 Stämme untereinander erhebliche Verschiedenheiten in der Virulinz aufwiesen; dagegen war die Virulenz jedes einzelnen Stammes außerordentlich konstant und alle Tierpassagen hatten keinen irgendwie erkennbaren Einfluß darauf. Ja sogar eine Kultur, die mehrere Jahre ohne Tierpassagen im Laboratorium immer auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet war, zeigte sich ebenso virulent wie die Passagekulturen desselben Stammes.

Webster kommt hiernach zu dem Schluß, daß Virulenzschwankungen bei der Epidemiologie des Mäusetyphus keine nachweisbare Rolle spielen und daß die Zu- und Abnahme der Erkrankungen und der periodische Verlauf der Ausbrüche durch andere Faktoren zu erklären sei, nämlich einerseits durch die Schwankungen der natürlichen und der erworbenen Immunität der befallenen Bevölkerung und andererseits durch die Quantität des ausgestreuten Virus. Diese Beobachtungen scheinen mir äußerst lehrreich zu sein; sie mahnen jedenfalls dazu, in der Annahme von Virulenzschwankungen auf Grund bloßer epidemiologischer Vorkommnisse vorsichtig zu sein. In den Kurven, die uns die englischen und amerikanischen Untersucher über den Verlauf der von ihnen beobachteten Mäusetyphusepidemien gaben, finden sich alle Typen wieder, die wir von natürlichen Seuchenausbrüchen her kennen: Explosionen mit steilem Anstieg und Abfall, wellenförmige Hebungen und Senkungen von jeder Gestalt und daneben sporadische oder dicht aufeinander folgende Einzelfälle, und ich glaube, wir müssen Webster darin folgen, daß alle diese Verlaufstypen auftreten können, ohne daß eine Veränderlichkeit des Krankheitserregers daran beteiligt ist. Ich glaube, daß die quantitativen Verhältnisse bei der Infektion überhaupt mehr als bisher beachtet werden sollten und daß sie nicht nur, wie vorhin schon erwähnt, bei chronischen Krankheiten, Tuberkulose und Malaria, sondern auch bei akuten Infektionen von großer Bedeutung sind. Wenn wir z. B. aus Beobachtungen von Gotschlich, Otto u. a. erfahren, daß beim Fleckfieber die ersten Fälle, die eine größere Epidemie einleiten, erheblich leichter zu verlaufen pflegen, als die späteren Erkrankungen auf der Höhe des Ausbruchs, so ist die wahrscheinliche Erklärung dafür wohl die, daß bei ihnen die Menge des übertragenen Virus geringer war. Bei den Mäusetyphusepidemien wurden ähnliche Unterschiede im Verlauf der einzelnen Krankheitsfälle beobachtet, insbesondere starben im Beginn einer Epidemie und in der Zwischenzeit zwischen zwei Ausbrüchen auffallend viele Tiere mit latenter Infektion und negativem bakteriologischen Befund, während auf der Höhe eines Ausbruchs solche Todesfälle kaum vorkamen.

Was die Bedeutung der Quantität des ausgestreuten Infektionsstoffes für die Epidemiologie betrifft, so habe ich mich kürzlich dahin ausgesprochen, daß es wesentlich auf quantitative Verhältnisse zurückzuführen ist, wenn bei uns (im Gegensatz zu Ländern mit weniger reinlicher Bevölkerung) der Paratyphus A nicht festen Fuß zu fassen vermag und auch der Paratyphus B nicht endemisch als eine von Mensch zu Mensch übertragene Seuche, sondern fast nur als Nahrungsmittelinfek-

tion vorkommt. Je nach der Quantität von Infektionsstoff, die durchschnittlich zum Zustandekommen einer Infektion per os nötig ist und die natürlich von der Virulenz des betr. Erregers abhängt, und je nach der Menge, die andererseits von den Kranken und Bazillenträgern nach außen abgegeben wird, ist für jede der infektiösen Darmkrankheiten ein gewisses Mindestmaß von Unsauberkeit nötig, damit sie sich dauernd in einer Bevölkerung fortpflanzen kann.

Ich möchte nochmals ausdrücklich hervorheben, daß hier immer nur von der Bedeutung der Virulenzschwankungen für die Epidemiologie die Rede ist, und daß speziell das Vorkommen von Virulenzänderungen bei den Bakterien der Paratyphusgruppe natürlich keineswegs in Abrede gestellt werden soll. Im Gegenteil konnte Amoss aus dem Mäusetyphusstamm, der zu den Experimenten des Rockefellerinstituts gedient hatte, künstlich verschiedene Varianten abspalten, die erheblich weniger virulent waren und vor allem die Fähigkeiten verloren zu haben schienen, durch Fütterung Epidemien zu erzeugen. Es ist durchaus möglich, daß solche und andere Varianten auch im natürlichen Verlauf der Krankheit gelegentlich entstehen, einen Einfluß auf die Epidemiologie der Krankheit würden sie aber nur dann ausüben, wenn sie regelmäßig und in großer Zahl vorkommen würden; andernfalls werden sie alsbald von selbst verschwinden.

Ich komme nun zu einer Gruppe von Krankheiten, deren Erreger Veränderungen mutativer Art unterliegen und bei denen diese Veränderungen für die Epidemiologie von Bedeutung sind.

Dazu dürfen wir wahrscheinlich das Fleckfieber rechnen. Die in New York beobachtete Brillsche Krankheit wird von den meisten Autoren als eine durch sprunghafte Aenderung entstandene Abart des Fleckfiebers angesehen; die Ursache der Aenderung darf man vielleicht darin suchen, daß die Krankheit sich dauernd in dem durchseuchten Milieu der dort eingewanderten Ostjuden, also einer großenteils partiell immunen Bevölkerung, fortgepflanzt hat.

Das klassische Beispiel für diese Gruppe bieten die Pocken. Bekanntlich ist eine milde Abart der Krankheit, die auch als Alastrim bezeichnet wird, mit einer Mortalität, die vielfach unter 1 Prozent liegt, in Süd- und Nordamerika, in der Schweiz und in England in großer Verbreitung aufgetreten; dabei hat sich herausgestellt, daß diese Varietät des Erregers zum mindesten nicht immer dauerhaft fixiert ist, sondern daß sie plötzlich in die hochvirulente Ausgangsform zurückschlagen kann — eine Beobachtung, die natürlich praktisch von großer Bedeutung ist. Was die Entstehung dieser Abart betrifft, so hat die Vermutung von Gins (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103, H. 2) viel für sich, daß das Virus infolge zahlreicher Passagen durch partiell immune Individuen eine Veränderung erlitten hat. Damit würde übereinstimmen, daß in Deutschland diese Form niemals beobachtet zu sein scheint; in einer gut durchgeimpften Bevölkerung reißt die Kette der Infektionen zu schnell ab, um eine derartige Varietät entstehen zu lassen.

Auch sonst neigt das Pockenvirus zu schnellen und dauerhaften Veränderungen. Es ist wohl als sicher anzunehmen, daß nicht nur die Kuhpocken, sondern auch die Schaf-, Ziegen- und Geflügelpocken alle aus den Menschenpocken als der einzigen Stammform hervorgegangen sind und dauernd weitere daraus entstehen. Ein Rück-

schlag in die Ausgangsform ist bei der Vakzine nie beobachtet worden, insofern ist sie also durchaus konstant. Dagegen läßt sie sich nicht dauernd von Rind zu Rind überimpfen, sondern die Kette reißt bald ab und neuerdings hat Gins (Klin. Woch. 1924, S. 634) darauf hingewiesen, daß auch beim ununterbrochenen Weiterimpfen von Mensch zu Mensch, wie es früher üblich war, wenn auch viel langsamer, erst nach Monaten oder Jahren das gleiche Ereignis eintritt; die Vakzine geht immer schlechter und schließlich gar nicht mehr an, und schon bevor die Virulenz endgültig erlischt, scheint sie ihre immunisierende Kraft zu verlieren.

Von den Trypanosomen und Spirochäten wissen wir, daß viele ihrer Arten sehr plastisch, bildsam und zur Ausbildung relativ beständiger Abarten geneigt sind, und es kann keinem Zweifel unterliegen, daß dieses Moment für die Epidemiologie dieser Infektionen von ausschlaggebender Bedeutung ist. Die fundamentale Bedeutung dieser Tatsache für die Trypanosomenkrankheiten hat Koch klar erkannt. Nach ihm sind die Ratten- (Lewisi-) und Rinder- (Theileri-) Trypanosomen zu festen Arten geworden, die dem Wirtstier aufs engste angepaßt sind, die übrigen Trypanosomen dagegen, die sich in ihrer Morphologie und Virulenz schwankend verhalten, sind ihrem Wirt noch nicht völlig angepaßt, noch nicht zu festen Arten entwickelt, sie befinden sich in einer Periode der Mutabilität; das hängt vielleicht damit zusammen, daß sie erst vor nicht allzu langer Zeit auf ihr jetziges Wirtstier übergegangen sind, also die Nagana auf das Rind, die Schlafkrankheit auf den Menschen. Es ist daher begreiflich, daß die Abgrenzung der einzelnen Arten bzw. Varietäten oft schwierig und unsicher ist. So stehen sich Nagana und Surra, die durch verschiedene Zwischenträger übertragen werden, und über deren immunisatorische Beziehungen noch keine sicheren Beobachtungen vorliegen, zum mindesten sehr nahe und die Erreger der westafrikanischen und rhodesischen Schlafkrankheit (T. gambiense und rhodesiense), von denen sich die letzteren zweifellos durch eine höhere Virulenz für die meisten Versuchstiere auszeichnen, sind wohl mit großer Wahrscheinlichkeit doch als identisch anzusehen. Auch die einzelnen Naganastämme zeigen bekanntlich untereinander oft sehr beträchtliche Abweichungen in ihrer Virulenz für verschiedene Tierarten, in ihrem Verhalten gegen Chemotherapeutika sowie in immunisatorischer Hinsicht.

Sehr ähnliche Verhältnisse treffen wir bei den Spirochäten an. Während z. B. die Erreger der Syphilis und der Frambösie, obwohl einander recht nahestehend und phylogenetisch wohl als eng verwandt anzusehen, gut fixierte und stabile Arten sind, zeigen die verschiedenen Recurrensarten (oder -varietäten), die russische, amerikanische, indische, west- und ostafrikanische nicht nur gewisse mehr oder weniger beständige morphologische und immunisatorische Unterschiede, sondern auch teilweise nicht unerhebliche Verschiedenheiten im Krankheitsverlauf; andererseits stehen sie sich so nahe, daß man vielleicht vermuten darf, daß sie erst seit verhältnismäßig kurzer Zeit durch Differenzierung auseinander hervorgegangen sind, wobei neben klimatischen Bedingungen die Verschiedenheit der Zwischenwirte von Einfluß gewesen sein mag. Auch die afrikanischen Hühnerspirochätosen (Virus aus Somali, Tunis, Sudan usw.) weisen im Gegensatz zu der anscheinend gut fixierten brasilianischen Varietät unter-

einander recht erhebliche Verschiedenheiten, vor allem bezüglich der Virulenz, des Krankheitsbildes, der Rezidivbildung und der Immunitätsverhältnisse, auf (Blaizot u. a.). Durch viele Beobachtungen ist erwiesen, daß sich aus Nagana- und Recurrensparasiten Rezidivstämme abspalten lassen, die sich vom Ausgangsstamm sowie untereinander immunisatorisch unterscheiden; auch das beweist die große Variabilität dieser Erreger.

Bei der Besprechung des Mäusetyphus hatte ich erwähnt, daß sich daraus Varietäten von schwacher Infektiosität abspalten lassen, daß wir aber keine Anhaltspunkte dafür haben, derartigen Vorgängen eine besondere Bedeutung in epidemiologischer Hinsicht zuzuschreiben. Es gibt nun aber Krankheitserreger, bei denen solche Veränderungen unter natürlichen Bedingungen regelmäßig und in großem Maßstabe stattfinden und bei denen sie daher meiner Ansicht nach von großem Einfluß auf den Seuchenverlauf sind. Dazu rechne ich vor allem die Diphtherie, wahrscheinlich auch die Meningitis. Die vor 10 Jahren von Gräf, Bernhardt und Paneth und die kürzlich von Killian mitgeteilten Beobachtungen stützen entschieden die schon früher von vielen Bakteriologen vertretene Annahme, daß nicht nur die in das Blut und die inneren Organe eindringenden, sondern auch die auf der Rachen- und Nasenschleimheit wuchernden Diphtheriebazillen sich schneller oder langsamer größtenteils in jene saprophytischen „diphtheroiden" Keime umwandeln, die für die Weiterverbreitung der Seuche nicht mehr in Betracht kommen.

Ebenso wie die Diphtheriebazillen gehen auch die Meningokokken ohne jede scharfe Grenze durch mannigfache Zwischenstufen in die meningokokken-ähnlichen Saprophyten der Rachenschleimhaut über, und ich möchte annehmen, daß für sie das gleiche gilt, wie soeben für die DiB. ausgeführt wurde, daß sie sich nämlich ebenfalls unter dem Einfluß besonderer Abwehrkräfte des Organismus sowohl beim Eindringen durch die Rachenschleimhaut, als auch auf der Oberfläche der Schleimhaut im Rachen der Keimträger in harmlose saprophytische Kokken umzuwandeln vermögen. Beide Krankheiten zeigen ja in jeder Hinsicht außerordentlich viel Analogien und alle Unterschiede in ihrem epidemiologischen Verhalten sind nur gradueller Natur, vor allem kommen bei beiden weit mehr gesunde Keimträger als Kranke vor, und zwar, wie nach neueren Feststellungen kaum mehr zu bezweifeln ist, nicht nur in der Umgebung von Kranken, sondern auch ohne jede erkennbare Beziehung zu ihnen. Bei Diphtherie hat man unter einer solchen, gänzlich unverdächtigen Bevölkerung 0,18 Proz. (Graham-Smith) bis 0,3 Proz. (Scott) Träger typischer und virulenter Keime gefunden, bei Meningitis etwa 2—5 Proz. (Flack, Glover). Wenn ich dabei, wie üblich, von gesunden Keimträgern spreche, so muß es richtiger heißen: anscheinend Gesunde; in unserem „katarrhalischen" Klima und bei der allgemeinen Verbreitung des Tabak- und Alkoholgenusses gelten aber leichte chronische Rachenkatarrhe nicht als Krankheit. Auch hier zeigen also die bakteriologischen Befunde — wie mir scheint, in guter Uebereinstimmung mit den epidemiologischen Tatsachen — einen nur gradweisen, wenn auch sehr erheblichen Unterschied zwischen beiden Krankheiten; dadurch erhalten, da wir ja die Diphtheriebazillen durch ihre spezifische Toxinbildung mit voller Sicherheit als solche identifizieren können, auch die entsprechenden Befunde von Meningokokken, die sonst Zweifel erwecken könnten,

eine wesentliche Stütze. Wir werden uns also wohl mit der Vorstellung vertraut machen müssen, daß die Kochsche Forderung, wonach ein spezifischer Krankheitserreger nur im Zusammenhang mit Fällen dieser Krankheit angetroffen werden soll, für die Meningokokken höchstens in einer soweit modifizierten Form gilt, daß die Modifikation schon eher einer Umkehrung des Gedankens gleichkäme. Jeder von uns wird aber wohl den Eindruck haben, daß die erwähnten bakteriologischen Befunde dringend weiterer Bestätigung und Ergänzung bedürfen. Ich möchte dabei eine Ergänzung auch in der Richtung für besonders erwünscht halten, daß in Ländern, in denen die betreffenden Krankheiten, soweit bekannt, nicht endemisch vorkommen und in denen ganz andere klimatische Bedingungen und ganz andere Verkehrsverhältnisse herrschen, als in den bisher untersuchten Kulturländern der gemäßigten Zone —, daß in solchen Ländern in derselben Weise große Bevölkerungsgruppen auf das Vorkommen von Diphtherie- und diphtheroiden Bazillen, Meningokokken und meningokokkenähnlichen Bakterien sowie weiterhin, um das gleich vorwegzunehmen, von Influenza- und influenzaähnlichen Bazillen durchsucht würden.

Sowohl bei Diphtherie wie bei Meningitis haben wir ferner Ursache anzunehmen, daß der Verlauf der einzelnen Seuchenausbrüche durch den wechselnden Virulenzzustand der Erreger mitbestimmt wird; dementsprechend wechselt nicht nur die durchschnittliche Schwere, sondern bisweilen auch die Art des Krankheitsbildes, indem z. B. bei manchen Meningitisepidemien die septischen Allgemeininfektionen auffallend in den Vordergrund treten.

Wenn man annimmt, daß die DiB. und Meningokokken unter gewissen Bedingungen regelmäßig in avirulente Formen sich umwandeln, so muß man sich natürlich die Frage vorlegen, ob sie auch umgekehrt aus den ihnen nahestehenden Saprophyten entstehen können. Ich habe mich bereits früher dahin ausgesprochen, daß wir eine solche Frage nicht auf Grund von Laboratoriumsversuchen, in denen wir die Natur nur sehr unvollkommen nachzuahmen vermögen, sondern nur auf Grund epidemiologischer Beobachtungen beantworten können und daß wir sie in diesem Falle dahin beantworten müssen, daß eine spontane Entstehung dieser Krankheiten nicht beobachtet worden ist.

Demgegenüber gibt es aber eine Gruppe von Infektionskrankheiten, deren Erreger jederzeit aus anscheinend avirulenten, weit verbreiteten saprophytischen Keimen hervorgehen können — Krankheiten, die daher im Gegensatz zu allen bisher besprochenen keiner Einschleppung bedürfen und die durch Vorbeugungsmaßnahmen wohl eingeschränkt, aber niemals ausgerottet werden können. Ich habe das als einen fundamentalen und vor allem auch vom praktischen Gesichtspunkte der Seuchenbekämpfung höchst bedeutsamen Unterschied gelegentlich meiner Ausführungen zur Influenzafrage hervorgehoben und dabei als Beispiele für derartige Krankheiten die Wundinfektionen, den Rotlauf, die Hühnercholera, die Paratyphus-Enteritisinfektionen der Haustiere und schließlich als diesen Krankheiten nahestehend die Influenza genannt. Ich verweise auf meine damaligen eingehenden Darlegungen (Dtsch. med. Woch. 1920. S. 957, und Med. Klinik. 1921. S. 551), die ich hier nicht wiederholen, sondern in einigen Punkten ergänzen möchte. Soweit sich diese Erreger auf unsere Ver-

suchstiere übertragen lassen, ist ihnen allen die Eigenschaft gemeinsam, daß bei ihnen außerordentlich starke Unterschiede in der Virulenz vorkommen; bei manchen von diesen Bakterien sehen wir auch denselben Stamm schnell von einem Extrem zum anderen schwanken. Auch bei den Influenzabazillen[1]) haben wir gewichtige Anhaltspunkte für solche Virulenzschwankungen. Gosio fand die Pfeifferschen Bazillen, die er aus typischen Fällen auf dem Höhepunkt der Pandemie züchtete, weit toxischer für Meerschweinchen als andere Stämme aus sporadischen Fällen, und Cecil u. Blake konnten mit Influenzakulturen, die durch mehrere i.per. Passagen für Affen angezüchtet waren, bei diesen Tieren auf dem natürlichen Wege der Infektion von der Rachenschleimhaut aus typische Influenza hervorvorrufen, während dieselben Kulturen unwirksam wurden, nachdem sie eine Zeitlang ohne Tierpassagen weiter gezüchtet waren. Auf ein der Influenza ganz eigentümliches Moment hat insbesondere Levinthal hingewiesen, nämlich auf die besondere Rolle, welche die exotischen Völker bei dem Ausbruch von Pandemien zu spielen scheinen. Da bei ihnen offenbar im Gegensatz zu den Kulturländern der gemäßigten Zone die Influenza nicht endemisch herrscht, liefern sie in ihrer nicht durchseuchten Bevölkerung ein voll empfängliches Menschenmaterial, in welchem sich der Erreger zur maximalen Virulenz steigert.

Ich habe in meinen früheren Ausführungen den größten Nachdruck darauf gelegt, daß die Influenza nicht wie Pest und Cholera von außen eingeschleppt wird, sondern daß sie dauernd bei uns endemisch herrscht, aber ich habe es dahingestellt gelassen, ob sich die Influenzabazillen in der Zwischenzeit zwischen den großen Epidemien überwiegend in sporadischen und leichteren Fällen, vielleicht besonders auch in Kindern, fortpflanzen oder als Saprophyten auf der gesunden Schleimhaut, wie das kurz vor dem Ausbruch der letzten Pandemie Gotschlich auf Grund epidemiologischer Erwägungen für den Influenzaerreger postuliert hat. In Amerika hat man die Pfeifferschen Bazillen in nahezu 40 Proz. aus dem Nasenrachenraum von Gesunden gezüchtet, Levinthal und Fernbach fanden sie, wenn man den wohl eine degenerative Varietät darstellenden sog. Bazillus X der amerikanischen Autoren einrechnet, in einer kleinen Untersuchungsreihe sogar bei 75 Proz. Zu berücksichtigen ist, daß alle diese Befunde innerhalb der letzten Pandemie erhoben sind. Ich möchte mich auch jetzt nicht dahin aussprechen, daß die Pfeifferschen Bazillen als regelmäßige Schleimhautbewohner, wie etwa die Strepto-, Pneumo- und Staphylokokken, anzusehen sind; ich möchte vielmehr nochmals darauf hinweisen, daß es zwischen den einzelnen Gruppen, die ich hier etwas schematisch als Typen aufstelle, fließende Uebergänge gibt. Vielleicht bildet die Influenza einen solchen Uebergang zur epidemischen Meningitis, bei der von Glover bis zu 20 Proz. Keimträger unter einer gesunden Bevölkerung angegeben werden.

Am deutlichsten sehen wir bei den Strepto- und Staphylokokken, wie aus ubiquitären Haut- und Schleimhautbewohnern (hier darf man das viel gemißbrauchte Wort ubiquitär unbedenklich an-

1) Ich spreche im folgenden nur von den Pfeifferschen Bazillen; ich habe aber früher (a. a. O.) dargelegt, daß, wenn wir einen anderen Influenzaerreger annehmen wollen, derselbe sich bezüglich seiner Virulenz und seines Vorkommens bei Personen, die nicht an typischer Influenza leiden, ebenso verhalten müßte.

wenden) durch Virulenzsteigerung die gefährlichsten Krankheitserreger entstehen, wobei hier dahingestellt bleiben mag, wieweit Anpassung im engeren Sinne und wieweit Auslese der Keime vorliegt.

Wenn uns auch das eigentliche Wesen der Virulenzsteigerung nach wie vor geheimnisvoll bleibt, so kennen wir doch, was praktisch nicht unwichtig ist, gewisse Umstände, die sie begünstigen. So sind es bei der Entstehung von Furunkeln zum Teil einfach mechanische, bei der Entstehung von Panaritien thermische und chemische Reizungen der Haut, bei Aknepusteln Sekretstauungen, die dazu führen, daß die Staphylokokken und andere gewöhnliche Hautkeime die Fähigkeit gewinnen, durch die Haut einzudringen und oft große Gewebszerstörungen anzurichten, und ähnliche Momente führen zu Ekzemen und anderen Hauterkrankungen, bei denen ebenfalls Hautkeime als Entzündungserreger auftreten. Ferner sehen wir, daß mangelhafte Reinigung der Haut und Tragen schmutziger Wäsche, besonders Wollwäsche, das Virulentwerden bzw. die Anreicherung virulenter Hautkeime begünstigt; in diesem Sinne sind neben gewissen Hautentzündungen, besonders Ekzemen, auch Phlyktänen als Schmutzkrankheiten, die gegen Ausgang des Krieges bei uns überhand nahmen, angegeben worden (Dohme, Dtsch. med. Woch. 1920. S. 387). Ich möchte das so deuten, daß jede Bekleidung überhaupt unnatürliche Bedingungen und damit gewisse Gefahren für die Haut schafft und daß die Reinlichkeit, eine späte Errungenschaft der Zivilisation, dazu bestimmt ist, diese Schädlichkeiten zu kompensieren. An sich ist ja, wie auch die Beobachtung an frei lebenden Tieren zeigt, eine regelmäßige Reinigung der Haut keineswegs notwendig, um dieselbe gesund zu erhalten.

Die extremste Steigerung der Virulenz unter dem Einfluß wiederholter Menschenpassagen sehen wir bei den Streptokokken, die in früheren Jahrhunderten allgemein in den chirurgischen Kliniken und noch zu Semmelweis' Zeit in den Wiener Gebäranstalten künstlich zu maximal virulenten Erregern ausgedehnter Kontaktepidemien herangezüchtet wurden.

Diese Krankheiten haben für uns ihre Schrecken verloren, aber dieselben Streptokokken und daneben die ebenfalls als normale Bewohner jedes Rachens bekannten Pneumokokken gehören als Erreger von Entzündungen der Atmungsorgane immer noch zu unseren gefährlichsten Feinden, insbesondere zu den schlimmsten Feinden der Kinderwelt. Auch hier scheint es mir geboten, die Frage aufzuwerfen, inwieweit das Eindringen und Virulentwerden dieser Keime durch eine unzweckmäßige und unnatürliche Lebensweise begünstigt oder überhaupt erst ermöglicht wird; ich glaube, wir sollten sogar von der Hypothese ausgehen, daß die Natur uns diese dauernden Bewohner unseres Körpers nicht als Feinde zugesellt hat, sondern daß es erst besonderer Umstände bedarf, um sie zu solchen werden zu lassen. Wir haben mancherlei Anhaltspunkte dafür, daß unter den vielen naturwidrigen Gewohnheiten, die unser Kulturleben mit sich bringt, vor allem mangelnder Aufenthalt in frischer Luft und mangelnde Abhärtung, zu warme und undurchlässige Kleidung, besonders aber auch die bei uns im Norden übliche starke und regelmäßige Erwärmung der geschlossenen Räume, in denen wir den größten Teil unseres Lebens zuzubringen verdammt sind, — daß dieses die Hauptschäd-

lichkeiten sind, die die sog. Erkältungskrankheiten begünstigen und daß unter diesen Schädigungen besonders die kleinen Kinder leiden. In Amerika will man beobachtet haben, daß in den Südstaaten der Union die Sterblichkeit an Pneumonie erheblich geringer ist als im Norden, wo sie besonders in den Großstädten immer mehr zuzunehmen scheint, und man führt das besonders darauf zurück, daß es dort mehr Zentralheizungen und überheizte Räume gibt, und daß sich die Leute dort weniger im Freien aufhalten als im Süden. Ich glaube, diesen Verhältnissen sollten gerade auch wir Bakteriologen mehr Aufmerksamkeit zuwenden.

Ich möchte nun noch eine zweite praktisch bedeutsame Frage berühren. Wir sehen jetzt, im Zeitalter der Asepsis und Antisepsis, auf die Zustände, die zu Semmelweis' Zeit in den Hospitälern herrschten, herab wie auf etwas uns ganz Fernliegendes und beinahe Unbegreifliches. Wir sollten uns aber ernstlich fragen, ob wir nicht vielleicht heutzutage noch ähnliche Fehler begehen und ähnliche Mißstände fortbestehen lassen. Ebenso wie als Wundinfektionserreger steigern die Streptokokken — und neben ihnen die Pneumokokken — auch als Katarrherreger ihre Virulenz, wenn sie von Mensch zu Mensch passieren, und ebenso wie bei den Streptokokkenkontaktinfektionen die Puerperae, so gibt es auch gewisse Gruppen von Menschen, die der Tröpfcheninfektion mit virulenten Kokken vorzugsweise zum Opfer fallen. Das sind vor allem die Masernkinder; bekanntlich sterben sie ja weniger an den Masern, als an den sekundären Katarrhen, und bekanntlich sterben sie viel häufiger, wenn sie ins Krankenhaus kommen, als wenn man sie zu Hause läßt — und das meiner Ueberzeugung nach nicht etwa, weil überwiegend die schweren Fälle ins Krankenhaus kommen, sondern zum größten Teil deshalb, weil sie sich dort gegenseitig mit ihren Katarrherregern infizieren. Auch erwachsene Masernkranke sind nach den in Amerika während des Weltkrieges gemachten Beobachtungen dieser Gefahr ausgesetzt, und man ist in den dortigen Rekrutenbaracken, wo die Masern zum Teil recht verbreitet waren, dazu übergegangen, auf Grund von Rachenabstrichen die „unreinen" Fälle, d. h. solche mit hämolytischen Streptokokken, von den „reinen" zu trennen. Auch in dem österreichischen Flüchtlings- und Gefangenenlager Gmund hat man, wie Reder (Zeitschr. f. Kinderheilkunde, Bd. 18) berichtet, durch Absonderung der „komplizierten Fälle" eine gewisse Besserung der erschreckend hohen Masernletalität erzielt, die während der Jahre 1915—17 (ca. 10000 Fälle) auf 27 Proz. angegeben wird. Unter den Rückwanderern aus der Ukraine, Kroatien usw., unter denen sich viele kleine Kinder befanden, betrug die Letalität der Masern sogar 45—48 Proz.! Niemand wird behaupten, daß solche Zustände unvermeidlich sind. Hygieniker und Kinderärzte sollten zusammenwirken, um hier Wandel zu schaffen.

Nach den Beobachtungen der amerikanischen Autoren sind auch Pneumoniekranke für Sekundärinfektionen mit hämolytischen Streptokokken recht empfänglich. Ferner haben erfahrene Kinderärzte schon darauf hingewiesen, daß es überhaupt bedenklich ist, kleine Kinder unnötigerweise zusammenzulegen, da sie sich gar

zu oft untereinander mit Katarrherregern infizieren, die dabei dann leicht zu besonderer Virulenz gesteigert werden; ich glaube aber, man hat noch lange nicht überall die nötigen Folgerungen daraus gezogen.

Aus den im allgemeinen unbeständigen und fluktuierenden Mikroorganismen dieser Gruppe entwickeln sich unter Umständen relativ beständige und gut fixierte Krankheitserreger. Als solche muß man die sog. „typischen" Pneumokokken auffassen, die neuerdings vielfaches Interesse gefunden haben. Aus den als Saprophyten weit verbreiteten Rotlauf- und Hühnercholerabazillen, von denen letztere in jeder Hinsicht besonders variabel sind, sehen wir die Erreger großer Epidemien entstehen, und wir dürfen wohl annehmen, daß dabei eine Virulenzsteigerung stattfindet, wenn auch spezielle Untersuchungen darüber wohl nicht vorliegen. Ebenso sind die Mäusetyphusbazillen, die, wie wir vorhin gesehen haben, in ihrem fixierten Zustand besonders bezüglich ihrer Virulenz auffallend konstant sind, doch ohne Zweifel aus der großen Paratyphusgruppe hervorgegangen, die bei unseren Haustieren teils saprophytisch, teils als Erreger recht verschiedenartiger Infektionen weit verbreitet sind. Bekanntlich sind sie für große Tiere per os im allgemeinen wenig infektiös. Bruns und Gasters (Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-Krankh. Bd. 90. S. 263) beschrieben aber eine durch Fütterungsinfektion sich weiter verbreitende Epidemie unter Hammeln, die fast sämtliche 300 Tiere einer Herde ergriff und die durch einen offenbar dieser Tierart besonders angepaßten und relativ fixierten Paratyphusstamm bedingt war.

Zum Schluß möchte ich noch eine oft erörterte Frage streifen, die nach allen diesen Beobachtungen nahe genug liegt, ob nämlich Krankheitserreger, die sich ja phylogenetisch nach darwinistischen Anschauungen aus freilebenden Arten ableiten, auch heute noch aus Saprophyten entstehen können. Mit Gotschlich bin ich der Ansicht, daß man die Möglichkeit und die Wahrscheinlichkeit solcher Vorkommnisse ohne weiteres zugeben muß. Was allerdings die von Gotschlich und auch von Pfeiffer vertretene Annahme betrifft, daß die Cholera nicht lange vor 1817 in Indien entstanden sein müsse, da es sonst unbegreiflich sei, weshalb sie nicht schon früher in andere Länder verschleppt sei, so muß ich gestehen, daß ich diese Beweisführung ebensowenig für zwingend halten kann, wie die ähnlich begründete Annahme Gotschlichs, wonach das Wiederaufleben der Pest im Jahre 1894 nur durch eine mutative Aenderung der Virulenz zu erklären sei. Ob und in welcher Weise sich da, wo ein geeigneter Infektionserreger vorhanden ist, eine Seuche ausbreitet, das hängt von so vielen Faktoren ab, die wir im Einzelfall praktisch gar nicht übersehen und auseinanderhalten können, daß es mir doch allzu gewagt erscheint, aus der Tatsache, daß keine weitverbreitete Epidemie entsteht, zu folgern, der Erreger könne nicht in einem örtlich beschränkten Herd seit langem existiert haben. Auch bei den Beobachtungen von Uhlenhuth und Zuelzer über Virulenzsteigerung einer Wasserspirochäte scheint es mir nicht sicher, daß es sich bei der Ausgangskultur um eine völlig apathogene Art gehandelt hat.

Ich glaube aber, daß wir nicht selten unmittelbar beobachten können, wie die Natur sich, wenn ich mich so ausdrücken darf, bemüht, neue Krankheitserreger hervorzubringen. So hat jüngst Lubinski.

(Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 91. S. 470) ebenso wie vor ihm Stephan u. a. mehrere Fälle von tödlicher Erkrankung durch den als normalen Schleimhautbewohner bekannten Diplococcus mucosus beobachtet, der in den Lumbalraum eindrang, dabei zum Teil typische Meningitis, zum Teil Bakteriämie und metastatische Herde hervorrief. Mehrere Autoren (vgl. den Bericht über die Mikrobiologentagung 1913, Centralblatt f. Bakt. Ref. Bd. 57, Beiheft, S. 277 ff.; ferner Poppe, Weichhardts Jahresber. V. S. 640 ff. 1922) haben ebenso wie ich selbst beobachtet, daß milzbrandähnliche, aber bewegliche Bazillen tödliche Infektionen veranlaßten, die ähnlich wie Milzbrand verliefen. Vermutlich sind solche Vorkommnisse gar nicht ganz selten, und wenn sich die betreffenden Mikroorganismen in der Regel nicht als Parasiten dauernd zu halten vermögen, so liegt das wohl daran, daß eine rein parasitäre Existenz, wie das Theobald Smith, Gotschlich u. a. schon ausgeführt haben, in den meisten Fällen für den betreffenden Keim im Interesse der Erhaltung seiner Art durchaus unzweckmäßig ist. Besonders die Erreger akuter Krankheiten sind immer in Gefahr, mit ihrem letzten Opfer selbst abzusterben, und wenn sie sich davor nicht durch Sporenbildung, durch den Uebergang in einen Zwischenwirt oder durch ein sozusagen ruhigeres Leben in chronischen Nachkrankheiten oder bei Keimträgern schützen können, so sehen wir sie meist wieder zur saprophytischen Lebensweise zurückkehren.

Inwieweit wird nun Kochs Spezifitätslehre und inwieweit werden besonders ihre praktischen Folgerungen durch die neueren Anschauungen über die Veränderlichkeit der Krankheitserreger berührt? Auf der Lehre von der Spezifität der Krankheitserreger beruht ja der größte Teil unserer Seuchenbekämpfung, auf ihr beruht unsere Diagnostik der Infektionskrankheiten durch bakteriologische und serologische Methoden, auf ihr beruhen alle Versuche zur Schutzimpfung und Serumtherapie.

Ich glaube, es ergibt sich aus allem, was ich heute besprochen habe, eigentlich nur bei der zuletzt besprochenen Gruppe von Erregern, die wir als fluktuierende den gefestigten konstanten Erregern gegenüberstellen können, und auch hier nur in einzelnen Punkten, eine wesentliche Aenderung unserer Anschauungen über die Bekämpfung von Infektionskrankheiten. Das trifft vor allem für die Influenza zu. Noch neuerdings hat Flexner die Anschauung vertreten, daß die Influenza von einem endemischen, wahrscheinlich in Zentralasien (Turkestan) gelegenen Herde aus immer wieder alle Länder überzieht, und er hat dazu aufgerufen, durch gemeinsame Arbeit aller Kulturländer diesen Herd zu erforschen und zu versuchen, hier an ihrem Ausgangspunkt die Krankheit in ähnlicher Weise wirksam zu bekämpfen und unschädlich zu machen, wie das z. B. für das Gelbfieber gelungen sei. Nach der Auffassung, die ich mit vielen anderen vertrete, sind die Voraussetzungen, von denen Flexner ausgeht, unzutreffend, und dann haben wir natürlich keine Aussicht, auf diesem Wege etwas zu erreichen. Es muß der weiteren Forschung überlassen bleiben, zu entscheiden, welche Anschauung die richtige ist; jedenfalls ist dies ein Punkt, in dem die Frage, ob es sich hier um einen konstanten oder um einen fluktuierenden Erreger in dem oben dargelegten Sinn handelt, von der größten praktischen Bedeutung für die Bekämpfung einer Seuche ist. Auch beim Rotlauf und der Hühnercholera werden die praktischen Bekämpfungsmaßnahmen in gewissem

Grade dadurch beeinflußt, ob man sich der oben vertretenen Anschauung über die Entstehung dieser Krankheiten und das Verhalten ihrer Erreger anschließt.

Aber das Gesagte gilt nur für die Bekämpfung dieser Krankheiten im großen und im besonderen für die Frage, ob wir diese Seuchen durch Abwehrmaßnahmen von einem Lande dauernd fern halten und, wie es bei dem Aussatz, der Pest, dem Gelbfieber gelungen ist, in den Kulturländern zum Verschwinden bringen können. Gewiß kann diese Frage, wie das Beispiel der Influenza zeigt, von ungeheurer praktischer Bedeutung sein. Wo es sich aber um die Verhütung der Einzelfälle und insbesondere um Maßnahmen des persönlichen Schutzes handelt, da werden wir, wie ich es speziell für die Influenza früher ausgeführt habe, im allgemeinen doch dieselben Maßnahmen zu treffen haben wie bei Infektionskrankheiten mit konstanten Erregern. Und wenn sich aus der Gruppe der fluktierenden Erreger für längere oder kürzere Zeit stabilisierte oder fixierte Varietäten herausbilden, wie etwa aus der Paratyphus-Enteritisgruppe der Mäusetyphus und andere an eine bestimmte Tierart elektiv angepaßte Arten oder wie die sogenannten „typischen" Pneumokokken aus ihren saprophytischen Verwandten, dann sind diese Erreger den Gesetzen der Spezifität in jedem Sinne unterworfen.

So ist Raum nebeneinander für die Lehren von der Spezifität und von der Variabilität der Krankheitserreger, beide bilden keine unvereinbaren Gegensätze, sondern ergänzen und bedingen sich gegenseitig.

Referat IV. J. Morgenroth (Berlin):

Die Bedeutung der Variabilität der Mikroorganismen für die Therapie[1]).

Das Thema kann bei weitem nicht in seinem ganzen Umfang und in seiner Tiefe erschöpft werden; dies überstiege schon die Zeit, die zur Verfügung steht. Ich habe auch keineswegs versucht, das sehr große Material irgendwie vollständig zu sammeln und erschöpfend darzustellen, sondern sehe meine Aufgabe als Referent darin, einen Stützpunkt für die Aussprache zu geben.

Die Leiter unserer Versammlung hatten bei der Aufstellung dieses Themas zweifellos die sogenannte spezifische Therapie der Infektionskrankheiten, vor allem die experimentelle Immunotherapie und die Chemotherapie im Auge. Daß es keine Aufgabe in der experimentellen oder klinischen Therapie der Infektionskrankheiten gibt, wie sie auch beschaffen sein mag, bei der nicht die Variabilität der Mikroorganismen fördernd oder hindernd interferiert, ist ohne weiteres einleuchtend, von den Zusammenhängen ist uns oft recht wenig bekannt.

Die therapeutische Variationslehre deckt sich vielfach mit dem, was Ehrlich „therapeutische Biologie der Mikroorganismen" genannt hat; er selbst hat das Gebiet mächtig ge-

1) Das Referat mußte beim Vortrag aus Rücksicht auf den Zeitmangel mehrfach gekürzt werden.

fördert, und der Ausbau in chemotherapeutischer Hinsicht bildete einen Hauptteil seines Arbeitsprogramms. Mit dem Entwicklungsgang der Chemotherapie hängt es zusammen, daß das Gebiet der Protozoen in dieser Hinsicht besser studiert ist, als dasjenige der Bakterien. Es dürfte deshalb auch angezeigt sein, mit jenem die Besprechung zu beginnen.

Es erscheint mir fast unmöglich, einen Ueberblick über die natürlich vorkommenden oder bei Fortzüchtung in Tieren bekannt gewordenen Variationen der Protozoen, z. B. von Malariaparasiten oder von Trypanosomen, in bezug auf die oft außerordentlich wechselnde Empfindlichkeit gegen chemotherapeutische Agentien zu geben. Es würde sich auch nicht um einen Ueberblick, sondern, im Grunde genommen, nur um eine fast unermeßliche Aufzählung ohne Leitgedanken handeln. Die Variationsmöglichkeiten und die beobachteten Variationsbreiten sind außerordentlich groß. Ich erinnere hier nur an die mehr oder weniger chininfesten Tropicainfektionen, die schon früher vielfach beschrieben wurden und deren Kenntnis durch Erfahrungen in Mazedonien und im Taurus in schmerzlicher Weise erweitert worden ist. Naturwissenschaftlich läßt sich über diese Variationen kaum etwas aussagen, nur eines ist wohl sicher, daß es sich um keine erworbene Chininfestigkeit handelt. Mit der Bezeichnung als „Standortvarietäten" wäre nichts für unsere Erkenntnis gewonnen.

Gegen Quecksilber und Salvarsan mehr oder weniger unempfindliche Syphilis ist allgemein bekannt; wie weit das Verhalten dem Parasitenstamm eigentümlich ist, welchen Anteil der Wirt oder die Wechselwirkung zwischen Wirt und Parasit, sowie Wirt und Heilmittel trägt, ist nicht zu entscheiden. Levaditi und Marie sehen, wie Sie wissen, in der Spirochaete pallida der Paralyse und der Tabes eine besondere neurotrope Varietät, ihre Ansicht ist umstritten, die Beobachtungen von Plaut und Mulzer über neurotrope Stämme, besonders solche von Paralyse stammende, sprechen für diese Anschauung. In bezug auf die geringe therapeutische Beeinflußbarkeit der Paralyse und Tabes nehmen die Autoren keine geringere Empfindlichkeit der neurotropen Spirochäte, sondern den maßgebenden Einfluß der örtlichen Verhältnisse an. Stühmer hat bei naganainfizierten und mit Salvarsan fast völlig sterilisierten Kaninchen aus dem Zentralnervensystem Stämme gewonnen, die sich von dem Ausgangsstamm unterschieden. Sie waren nicht nur mitigiert, indem infizierte Ratten mit dauerndem Trypanosomenbefund im Blut 5 Monate lebten, sondern sie traten bei weiterer Uebertragung auf Kaninchen nur im Nervensystem auf, waren also, wie Stühmer sagt, neurotrop geworden. Der Autor macht den Vorbehalt weiterer Bestätigung dieses Befundes, der Levaditis Anschauung einer besonderen Varietät der Spironeme stützen würde. Daß eine Mitigation der beobachteten Art auch in therapeutischer Hinsicht von Bedeutung wäre, ist anzunehmen.

Die erheblichen Empfindlichkeitsunterschiede von Trypanosomenstämmen gleicher Spezies im chemotherapeutischen Laboratoriumsversuch waren Ehrlich schon sehr bald aufgefallen. Er unterschied Trypanosomenstämme, die chemotherapeutischen Agentien gegenüber besonders empfindlich sind, er bezeichnete sie als „Debilis" zum Unterschied von weniger empfindlichen, die er als „Ferox" bezeichnete. „Ferox" war gegen Chinaalkaloide in der Konzentration, wie man sie bei Mäusen anwenden kann, überhaupt unempfindlich. Damit hing es auch zusammen,

daß Ehrlich, wie er mir es selbst erzählte, bei Inangriffnahme des Chiningebietes, die nach den Versuchen Hunts in seinem Laboratorium nahe genug lag, scheiterte. Ich hatte dann mit Halberstädter mehr Glück bei dem „Debilis"-Stamm Prowazek, der leider bei sonstiger Konstanz seiner Empfindlichkeiten im Kriege gegen Chinaalkaloide gleichfalls „ferox" geworden ist.

Ueber die Variation der Empfindlichkeit von verschiedenen Naganastämmen in der Maus gegen Arsacetin und Brechweinstein liegen sehr sorgfältige Versuche von Teichmann vor. Er fand recht wechselnde Empfindlichkeitsgrade, unabhängig von der Virulenz, und zwar bestand keinerlei Parallelismus zwischen Arsen- und Antimonempfindlichkeit. Ich habe schon vor zehn Jahren in Versuchen mit Murata, die noch nicht veröffentlicht sind, eine vergleichende Untersuchung des Stammes „Ferox" und „Prowazek" durchgeführt. Die wirksame Dosis des Arsacetins verhielt sich wie 5:1, des Salvarsans wie 3:1, die Empfindlichkeit gegen Brechweinstein war bei beiden die gleiche, also 1:1, ebenso verhielt sich Trypaflavin. Man muß zur Erläuterung dieses Verhaltens Aviditätsunterschiede der Chemoceptoren heranziehen, analog Ehrlichs Anschauung bezüglich der künstlich gefestigten Trypanosomen. Teichmanns sowohl wie unsere Versuche ergaben auch, daß man nicht allgemein von einem Stamm als „ferox" oder „debilis" sprechen darf.

Auch bei der Therapie der Schlafkrankheit machte man die Erfahrung großer regionärer Unterschiede, selbst wenn man von der bedeutenden Differenz im Verhalten des Tr. gambiense und rhodesiense, die nach Ansicht Kleines vielleicht derselben Art angehören, absieht. Es sei auch an die günstige Reaktion der Schlafkrankheit in Togo gegen Arsenophenylglycin, im Gegensatz zur ostafrikanischen Schlafkrankheit erinnert.

Diese großen, regionär, durch die Art der Wirtstämme, individuell und wohl auch zeitlich wechselnden Empfindlichkeitsunterschiede der Parasiten sind für die praktische Anwendung chemotherapeutischer Errungenschaften von größter Bedeutung, und man wird allmählich auch ihrer rationellen Erforschung näher kommen.

Ihnen steht gegenüber ein seit nur etwa 20 Jahren studiertes, kaum mehr zu übersehendes Gebiet der Variabilität, das in erster Linie an den Trypanosomen erforscht ist und in ganz ungeahntem Maß der experimentellen Beherrschung zugänglich ist. Die medizinische Bedeutung dieses Gebietes erscheint mir ebenso groß wie die biologische; Ehrlich, der sein eigentlicher Schöpfer ist, hat beide Richtungen gleich hoch eingeschätzt und dies in seiner theoretischen Betrachtungsweise, in den praktischen Konsequenzen und auch in der Auswahl seiner Mitarbeiter bewiesen. Aus diesem großen Gebiet möchte ich Ihnen — unter Weglassung des allgemein den Fachleuten Bekannten — eine Auswahl von Erscheinungen vorführen, die von der Mannigfaltigkeit der Variationen und vor allem von **ihrer Beherrschung durch das Experiment** zeugen.

Ueber die biologische Bedeutung der hier in Frage kommenden Variationen hat sich soeben Herr Jollos in seinem lichtvollen Referat ausgesprochen. Man kann sich seinen zwingenden Ausführungen nicht entziehen und muß ihnen auch in bezug auf die Nomenklatur Rechnung tragen. Bisher neigte ich nach dem Vorgang von Ehrlich und in Uebereinstimmung mit den Ausführungen des Herrn Gotschlich zu einer

etwas weniger rigorosen Handhabung der Bezeichnungen, werde aber von jetzt ab die Benennung „Mutation" bis auf weiteres zugunsten des von Jollos vorgeschlagenen korrekteren Ausdruckes „Dauermodifikation" verlassen.

Wie Sie wissen, ist die Arzneifestigkeit, wie sie im systematischen Versuch erzeugt wird, eine langdauernde Eigenschaft der Trypanosomenstämme. Ehrlich hat 3—4 Jahre hindurch arsenfeste Stämme fortgezüchtet, ich selbst 2 Jahre. Es sind auch Fälle von Arzneifestigkeit bekannt, welche nach Monaten oder Jahren wieder abklingen. Genaue, systematische, mit allen biologischen Kautelen, d. h. an reinen Linien, ausgeführte Versuche über die Frage der Dauer der Arzneifestigkeit liegen meines Wissens nicht vor. Eine wichtige Vorarbeit für solche Versuche hat Oehler ausgeführt. Er führte, ausgehend von einer Zelle, einen Normalstamm und einen salvarsanfest gemachten Stamm fort und machte mit beiden Mischinfektionen bei Mäusen, ebenso mit einem brechweinsteinfesten Stamm. Ganz regelmäßig trat im Lauf der Passagen eine Entmischung ein, und es blieb der Normalstamm übrig. Oehler hält die beobachtete Differenz in der Vermehrungsschnelligkeit zugunsten des Normalstamms für entscheidend.

Es ist von einem gewissen Interesse, daß die Möglichkeit besteht, diese Arzneifestigkeit mit einem Schlage zu brechen. Eine gelegentliche Beobachtung dieser Art wurde von Bilfinger bei Malaria gemacht, der das Rezidiv nach Salvarsanbehandlung einer chininfesten Malaria chininempfindlich fand; die theoretische Ausdeutung dieser Einzelbeobachtung ist nicht leicht. Das Experiment an trypanosomeninfizierten Mäusen macht eine ähnliche Erscheinung der Forschung zugänglicher. Es war nicht schwer, Trypanosomen gegen Chinin und seine Derivate zu festigen. Bringt man solche Trypanosomen durch Salvarsan zum Verschwinden, so daß etwa nach einer Woche ein Rezidiv eintritt und die Trypanosomen von neuem im Blut erscheinen, so haben sie in einem Teil der Fälle ihre Chininfestigkeit verloren, und nicht nur die alte Empfindlichkeit gegen Salvarsan, sondern eine erheblich erhöhte Empfindlichkeit gewonnen. (Morgenroth und F. Rosenthal.) In diesen Beobachtungen liegt eine der Grundlagen für die Theorie der Kombinationstherapie, indem sie zeigen, daß durch Einwirkung eines chemotherapeutischen Agens die Empfindlichkeit gegenüber einem Mittel, das einer ganz anderen Klasse chemischer Körper angehört, erhöht werden kann.

Wenn wir Trypanosomen in der eben angedeuteten Weise gegen Chinin gefestigt haben, so haben wir es — und das ist natürlich eine grundlegende Tatsache — nicht etwa mit einer allgemeinen Resistenzerhöhung gegen chemische Schädigungen überhaupt, gegen chemische Mittel aller Art zu tun, sondern es liegt eine Veränderung vor, die im großen ganzen den Charakter des Spezifischen trägt. Das hat schon Ehrlich in bekannten Versuchen festgestellt, indem er einen Trypanosomenstamm festigte und zwar 1. gegen Arsenverbindungen, 2. gegen einen Farbstoff aus der Reihe der Triphenylmethanfarbstoffe, 3. einen Farbstoff aus der Reihe der Benzindiazofarbstoffe.

Ehrlich schöpfte aus dieser Spezifität der Arzneifestigkeit seine bekannte Konzeption der Chemoceptoren, er stellte die Entstehung der Festigkeit dar als eine Affinitätsverminderung der Chemoceptoren und glaubte, daß die arzneifest gewordenen Trypanosomen eine Art therapeutisches Sieb, ein Cribrum therapeuticum, darstellen. Mit diesem

therapeutischen Sieb hat es eine eigentümliche Bewandtnis; es hat große Löcher und unregelmäßige Maschen, wie dies Ehrlich schon selbst feststellen mußte. Wir stehen hier vor allem vor der merkwürdigen Tatsache, daß Trypanosomen, die man gegen Arsenverbindungen gefestigt hat, gleichzeitig eine Festigung gegen eine Reihe von organischen Farbstoffen (Oxazine, Akridine) gewinnen. Ehrlich glaubte diese Farbstoffe zusammenfassen zu können als orthochinoide Farbstoffe. Ob dies chemisch zulässig ist, ist noch umstritten: neuere Anschauungen neigen der Annahme einer Tautomerie zwischen ortho- und parachinoider Bindung zu. Das launenhafte Verhalten bei der Festigkeit lernt man kennen, wenn man sich mit der Festigung gegen Arsen und Antimon beschäftigt, die bisher am besten studiert wurde. Ehrlichs berühmte Arsenstämme I bis IV sind Ihnen bekannt. Ehrlich selbst hat schon bemerkenswerte Abweichungen beobachtet, so die Erzielung eines antimonfesten Stammes durch Behandlung mit Arsenophenylglycin allein, eines salvarsanfesten Stammes durch Behandlung mit Arsacetin (Margulies).

Ritz, der zur Gewinnung von Rezidivstämmen den Naganastamm Prowazek bei einer und derselben Maus mit intravenöser, später subkutaner Injektion von Salvarsan 1:15000—1:30000 (in Form des Neosalvarsans) im Laufe von vielen Wochen bis 20mal abheilte, sah niemals eine wesentliche Steigerung der Arsenfestigkeit. Er läßt es dahingestellt, ob die Behandlung mit Salvarsan in dieser Beziehung einen Spezialfall darstellt, und ist geneigt, der Arsenfestigkeit praktisch eine geringe Rolle zuzuschreiben. In meinem Laboratorium gelang die Festigung gegen Salvarsan leicht (Amster).

Ich möchte etwas näher auf das recht lehrreiche Verhalten des von mir und Halberstaedter erhaltenen arsacetinfesten Naganastammes eingehen:

Wenn man die Maus mit 0,1 einer 1proz. Lösung behandelte, so verschwanden die Trypanosomen vollständig. Nach 5 bis 6 Tagen Rezidiv. Das Rezidiv wird mit einer etwas größeren Menge von Arsacetin behandelt. Die Trypanosomen verschwinden. Neues Rezidiv. Wieder mit größeren Mengen von Arsacetin behandelt. Ich will Sie mit Einzelheiten nicht ermüden, nur resümierend anführen, daß man 8 Tage nach Beginn der Behandlung bereits eine deutliche Festigkeit der Trypanosomen wahrnimmt, und nach etwa 40 Tagen '— nach 11 Injektionen steigender Menge — bereits eine Festigkeit um das 8—10fache vorhanden ist, und daß wir dann nach ungefähr 80 Tagen eine maximale Festigung sehen. Das 40fache der sonst prompt wirkenden Dosis Arsacetin wird von den Trypanosomen ohne sichtbaren Nachteil vertragen. Das ist eine hohe Festigung, die in relativ kurzer Zeit erreicht wird. Eine Weiterführung der Festigung findet ihre Grenzen dadurch, daß größere Mengen Arsacetin von den Mäusen nicht mehr vertragen werden.

Untersucht man nun das Verhalten dieses Stammes gegenüber dem Salvarsan, so findet sich auch hier eine ganz erhebliche Festigung, die allerdings etwas geringer ist als gegenüber dem Arsacetin; sie beträgt etwa das 20- bis 25fache, ist also ungefähr halb so stark.

Ganz anders ist das Verhältnis des Arsenophenylglycin; es beträgt etwa 1:1,5 d. h. die gefestigten Trypanosomen vertragen nur wenig mehr Arsenophenylglycin als die normalen Trypanosomen. Die Ansprüche an die Genauigkeit dürfen hierbei nicht übertrieben werden.

Aber im Vergleich zu der Festigkeit gegen Arsacetin und Salvarsan ist die Festigkeit gegenüber dem Arsenophenylglycin eine minimale. Dem Brechweinstein gegenüber finden wir bei dem Stamm eine ganz erhebliche Festigung, und zwar 1:20—25, also ungefähr dieselbe wie gegenüber dem Salvarsan.

Sie sehen, von einer regulären Arzneifestigkeit gegenüber Arsenverbindungen überhaupt ist gar keine Rede, sondern das, was sich hier uns darbietet, ist höchst verwirrend und bietet große Schwierigkeiten für die theoretische Ausdeutung. Ehrlich hat Erscheinungen dieser Art dadurch in den Kreis seiner Chemoceptorentheorie einzuziehen versucht, daß er einen weiteren Chemoceptor für den Amidoessigsäurerest des Arsenophenylglycin annahm.

Als wir nun diesen Stamm fortlaufend beobachteten, zeigte sich eine Erscheinung, die ein ganz besonderes Interesse bot. Nach 6 Wochen langem Fortzüchten im Laboratorium, wobei die Behandlung mit Arsacetin unterbrochen wurde, präsentierte sich dieser Stamm eines Tages zwar als vollunempfindlich gegenüber dem Arsacetin, aber die erhebliche Festigkeit gegen Brechweinstein war weg. Also er hat nun normale Empfindlichkeit gegen Brechweinstein, beinahe normale Empfindlichkeit gegen Arsenophenylglycin, hochgradige Festigkeit gegen Arsacetin und Salvarsan.

Nach der ganzen Genese des Stammes war das Nächstliegende, ihn von neuem mit Arsacetin zu behandeln. Das haben wir auch getan, jedoch ganz ohne Erfolg. Man brauchte aber den Stamm nur mit der üblichen Dosis Brechweinstein zu behandeln und zu warten, bis bei der Maus das Rezidiv eintrat; die Trypanosomen, die beim Rezidiv entstanden, waren wieder fest gegen Brechweinstein und blieben es.

Wenn man sich die Vorgänge, die hier stattfinden, etwas überlegt, so ist das der einzige Fall, bei dem, wie ich glaube, die einfache Auslese bei der Festigung eine entscheidende Rolle spielt.

Wir erhalten eine Festigung gegen Brechweinstein durch Arsenophenylglycin, durch Arsacetin, durch arsenige Säure nach Vorbehandlung mit Arsacetin und Arsenophenylglycin; dem gegenüber steht die zweifellose Tatsache, — damit haben sich genug Experimentatoren beschäftigt — daß es unmöglich ist, Trypanosomen gegen Brechweinstein zu festigen, dadurch, daß man sie mit Brechweinstein behandelt. Das ist ein wichtiges Faktum für die Theorie, denn an und für sich gäbe es kein besseres Agens als den Brechweinstein, wenn die Festigung auf dem Wege der Auslese erfolgte.

Daß der Brechweinstein nichts vermag, das wird um so merkwürdiger, wenn man ganz genau analysiert, was bei den Trypanosomen durch die Behandlung mit Brechweinstein vorgeht.

Wenn Sie zunächst hören, daß es unmöglich ist, Trypanosomen gegen Brechweinstein zu festigen, dann werden Sie sagen, sie verändern sich eben unter dem Einfluß des Tartarus stibiatus primär überhaupt nicht. Ich habe vor einer Anzahl Jahren mit meinem Mitarbeiter Rosenthal versucht, die Vorgänge zu analysieren, indem wir das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blut stark infizierter Mäuse durch Einwirkung von Brechweinstein in Form von Kurven darzustellen versuchten. Wir haben das Verschwinden der Trypanosomen zahlenmäßig untersucht, indem wir sie mit einem Zeiß-Thomaschen Apparat ausgezählt haben.

Dann bekommt man für das Verschwinden der Trypanosomen Kurven, die sich im wesentlichen gleichen. Der Schnittpunkt mit der Abscisse ist dann der Moment, wo man keine Trypanosomen mehr findet, und das ist bei einer bestimmten Brechweinsteindosis 70—180 Minuten nach der subkutanen Injektion der Fall — ein sehr rasch verlaufender Prozeß der Zerstörung. Wenn man nun eine Woche wartet, dann tritt regelmäßig das Rezidiv ein. Wenn etwa 500000 Trypnosomen im Kubikmillimeter enthalten sind, behandelt man mit derselben Brechweinsteindosis. Angesichts des Mißerfolges der Festigungsversuche müßte man erwarten, daß diese Heilversuche beim Rezidiv sich verhalten wie die ersten. Davon ist aber keine Rede. Die Kurve zieht sich sehr in die Länge, auf mehr als 12 Stunden.

Wenn man aber diese Rezidivtrypanosomen, die also regelmäßig eine vollständig andere Kurve liefern, auf eine neue Maus überimpft, erhält man sofort wieder die Normalkurve. Die Eigenschaft geht bei der Ueberimpfung verloren. Wir stehen also der Tatsache gegenüber, daß der Brechweinstein die Vorbedingungen zur Festigung schafft; nur wird diese rasch entstehende Festigkeit nicht festgehalten, aus Gründen, die uns dunkel sind.

Ich habe versucht, gemeinsam mit Murata, dieser Frage durch eine andersartige Versuchsanordnung näher zu treten.

Wenn man Mäuse, die mit einem normalen Trypanosomenstamm infiziert sind und eine maximale Menge Trypanosomen im Blut enthalten, mit Salvarsan oder dem sehr stark wirkenden Akridiniumfarbstoff Trypaflavin behandelt, so kann man Dosen nehmen, die mit absoluter Sicherheit die Ehrlichsche Sterilisatio magna hervorrufen. Man gebraucht das 10- oder 50fache der schon wirksamen Dosis und ist sicher, daß man die Mäuse heilt und daß nicht ein Trypanosoma übrig bleibt, das ein Rezidiv hervorrufen könnte. Man wartet aber nur eine Stunde, darauf ist eine erhebliche Verminderung der Trypanosomen noch nicht eingetreten, schneidet der Maus den Kopf ab, entblutet sie in Kochsalzlösung, infiziert eine neue Maus intraperitoneal oder intravenös. Wenn man nun die zweite Maus wiederum mit Salvarsan behandelt, dann sieht man, daß die Trypanosomen eine ganz erhebliche Festigkeit gegen Salvarsan bereits gewonnen haben.

Man kann weitergehen und an die Stelle des therapeutischen Versuchs den prophylaktischen Versuch setzen. Man injiziert in die Schwanzvene sofort nach Injektion der beeinflußten Trypanosomen Salvarsan. Auch dann sieht man noch nichts von irgendwelcher Unterdrückung der Infektion durch sonst sicher wirksame Dosen.

Wenn man sich diesen Versuch überlegt, dann sieht man, daß er noch eindeutiger ist als der zuerst geschilderte Versuch mit Brechweinstein, und daß die Trypanosomen, die bei normaler Fortdauer des Versuchs in der ersten Maus bei der Anwendung einer ungeheuren Heildosis im Verlaufe von nicht vielen Stunden dem Untergang geweiht wären, schon eine ganz hochgradige Festigkeit dem chemotherapeutischen Agens gegenüber erlangt haben, die auch noch ihren nächsten Nachkommen eigen ist.

Ich habe diesen Vorgang, den ich für etwas Eigenartiges halte, um ihn von der üblichen Arzneifestigkeit zu unterscheiden, wegen seiner Schnelligkeit als „Chemoflexion“ bezeichnet; ich glaube, wir haben hier eine Erscheinung besonderer Art vor uns, die uns zeigt, wie die Trypanosomen in allerkürzester Zeit eine eigenartige und tief-

gehende Veränderung im Sinne der Festigkeit erleben; ob es sich hier um Vorgänge handelt, die bei entsprechender häufiger Wiederholung schließlich zu der dauernden Arzneifestigkeit führen, kann man vorläufig nicht sicher behaupten; es scheint mir dies aber wahrscheinlich. Dafür spricht der Umstand, daß bei der Chemoflexion die gleiche Wechselbeziehung zwischen Salvarsan und Trypaflavin besteht, wie bei der allmählich angezüchteten Arzneifestigkeit.

Diesen beiden geschilderten Versuchen will ich noch kurz einen dritten Versuch hinzufügen, der das Bild vervollständigt, das wir uns von den Faktoren für diese Veränderung machen können. (Morgenroth und F. Rosenthal).

Dieser dritte Versuch ist auch in dem Sinne zu verwerten, daß es sich um einfache Vorgänge, vor allem um eine Auslese, nicht handeln kann. Ich will nicht den Umweg machen, zu erzählen, wie wir zu diesem Versuch gekommen sind, sondern nur feststellen, daß man Trypanosomen im Mäusekörper mit einem dem Antimon nicht ganz fernstehenden Element, fünfwertigem Tantal, behandeln kann. Die ungiftige Tantalverbindung hat die Eigenschaft, daß sie die Trypanosomeninfektion überhaupt nicht beeinflußt; wenn man aber die trypanosomeninfizierte Maus damit behandelt hat, dann sieht man, daß die Trypanosomen sich genau so verändert haben, als ob sie einer einmaligen Behandlung mit dem stark wirksamen Brechweinstein unterzogen worden wären, sie haben dieselbe Kurve wie die oben geschilderte des Brechweinstein-Rezidivs. Hier könnte das Moment der Auswahl schon gar nicht in Frage kommen, weil die Trypanozidie überhaupt fehlt.

Bemerkenswert ist es, daß diese mit Tantal behandelten Trypanosomen schließlich eine weitere biologische Eigenschaft erwerben, die der Fortführung der Festigung immer eines schönen Tages ein Ende bereitet. Wenn eine Infektion der Maus mit diesen gelingt, dann erfolgt die Vermehrung genau wie bei normalen Trypanosomen. Aber nach einigen Passagen geht die Infektion einfach nicht an; die Trypanosomen hören auf, infektiös zu werden. Wir haben dies, allerdings selten, auch bei Behandlung mit Bayer 205 gesehen.

Die Theorie der Chemoceptoren, die Ehrlich an das Studium der Arzneifestigkeit der Trypanosomen angeknüpft hat, ist Ihnen bekannt. Die Theorie wird verschieden bewertet. Ich möchte das Urteil eines hervorragenden Zoologen, Jollos, anführen: „In mancher Hinsicht stimmen unsere experimentellen Ergebnisse somit mit den theoretischen Vorstellungen überein, die Ehrlich entwickelt hat. Doch will es mir nicht zweckmäßig erscheinen, die hier relativ klar zu überschauenden Verhältnisse durch die Einführung hypothetischer Chemoceptoren u. dgl. zu komplizieren, dürfte doch ein tieferes Verständnis nicht durch derartige Bilder, sondern nur durch exakte physikalisch-chemische Untersuchungen zu gewinnen sein."

Ich muß bekennen, daß ich mir den bisher erzielten Fortschritt ohne die Mitwirkung eines ordnenden Prinzips, wie es die Chemoceptorenlehre ist, kaum vorstellen könnte. Daß die Vorstellungen noch sehr allgemeiner Natur sind, ist kaum ein Nachteil; daß in ihnen wenigstens richtige Grundlagen enthalten sind, dafür spricht ihre bisherige Brauchbarkeit als Forschungsmaxime. Man kann bei Betrachtung dieser Theorie an Weismanns Determinantenlehre denken, die, ähnlich allgemein gehalten, sich schließlich doch als grundlegend erwiesen hat. Vielleicht geht es doch der Chemoceptorentheorie eines Tages wie der

Determinantenlehre, von der Spemann unlängst sagte: „Eine faktorentopographische Chromosomenkarte Morgans mutet an wie ein mit konkretem Inhalt angefülltes Weismannsches Schema.“ Den heute von Herrn Gotschlich gemachten Versuch, Erscheinungen der Tautomerie zur Erklärung der biologischen Variation heranzuziehen, kann ich nur begrüßen. Er bedeutet eine ganz selbständige Fortführung Ehrlichscher Ideengänge gerade für das hier behandelte Gebiet willkürlich und rasch hervorgebrachter Variationen. Die Anschauungen Gotschlichs können durchaus führend für das Experiment sein, und hier wird sich ihre Brauchbarkeit erproben können.

In den Jahren 1919—1920 hat S. Neuschloß Untersuchungen über die Festigkeit von Paramäcien gegen Chinin, Methylenblau, Trypanblau, Fuchsin, Natrium arsenicosum und Brechweinstein angestellt. Er erzielte mäßige Festigkeitsgrade. Die gefestigten Trypanosomen haben im Gegensatz zu den normalen in spezifischer Weise die Fähigkeit, Chinin (und zwar sehr große Mengen) und die Farbstoffe zu zerstören, das dreiwertige Arsen und Antimon wird in das ungiftige, fünfwertige überführt. Die Beobachtungen an Farbstoffen stehen nicht in Einklang mit den Versuchen Gonders an arsenfesten Trypanosomen, die gleichzeitig die bekannte Festigkeit gegen einen orthochinoiden Farbstoff, nämlich gegen Bauers Triaminophenazoxoniumchlorid und Triaminophenazoseleniumchlorid gewonnen hatten.

Hier dringt — im Gegensatz zu den normalen Trypanosomen — bei den festen Stämmen der Farbstoff erst nach dem Tode in die Zelle ein, aber er bringt eben bei diesen eine rotviolette Färbung des Protoplasmas hervor, ein Beweis also, daß er keineswegs zerstört worden ist. Nach Neuschloß hebt auch die arsenige Säure die Chininfestigkeit der Paramäcien und damit ihre Fähigkeit, Chinin zu zerstören, auf. Solche Versuche, die falls sie sich bestätigen, von großer Bedeutung sind und die — auf biologischem Gebiet ein seltenes Glück — eine große Reihe von Erscheinungen restlos aufklären würden, bedürfen zunächst sorgfältiger Nachprüfung.

Versuche, die ich schon vor Jahren mit Tugendreich gemacht habe, stehen gut in Uebereinstimmung mit den eben angeführten Versuchen Gonders. Wenn man einen pyroninfesten Trypanosomenstamm im Reagenzglas von Pyronin beeinflussen läßt und die Resistenz der Trypanosomen im Tierversuch mit sofortiger Injektion nachprüft, so bekommt man ein Festigkeitsverhältnis von 40—80:1. Wartet man mit der Injektion der Versuchstiere nur 1—2 Std., so bekommt man das Verhältnis 2:1, d. h. die Trypanosomen vertragen nur die zweifache Menge des Pyronin, und die Festigkeit erscheint erheblich reduziert.

Die Reduktion der „Avidität“ der Chemoceptoren findet in diesen zeitlichen Verhältnissen einen anschaulichen Ausdruck. Nähme man hier, ebenso wie bei Gonders Versuchen, eine Veränderung der Außenschicht der Trypanosomen an, die das Eindringen der in der Lösung befindlichen trypanociden Agentien verlangsamt, so käme man auch zu einer Deutung des Versuchs, aber die Beziehung zu der Spezifität der Festigung würde Schwierigkeiten machen. Die hier geschilderten zeitlichen Verhältnisse können die Fälle erklären, bei denen Festigkeit in vivo vorhanden ist, in vitro fehlt. Voraussetzung ist kurzes Verweilen des Agens in der Blutbahn.

Auf die praktische Bedeutung der Arsen- und Antimonfestigkeit

brauche ich kaum einzugehen; Sie wissen, daß sie bei der Bekämpfung der Schlafkrankheit eine Rolle spielt.

Eine sehr wichtige Frage in bezug auf die Festigkeit bei den Protozoen ist die, ob bei dem Durchgehen durch das Insekt die Festigkeit verloren geht. Es ist recht schwer, für diese Dinge Versuchsbedingungen zu finden. Der Versuch von Gonder, mit Uebertragung von Tryp. Lewisii, das mit arseniger Säure gefestigt war, durch Hämatopinus ist Ihnen gegenwärtig.

Ob das nun in allen Fällen so ist, muß dahingestellt bleiben. Dafür sprechen die Versuche, die Jollos unternommen hat, der fand, daß bei einer Konjugationsepidemie von Paramäcien die Festigung mit einem Schlage verschwand.

Diese ganzen Vorgänge der Festigkeit erstrecken sich keineswegs nur auf freilebende Protozoen und die bisher behandelten Trypanosomen. Wir kennen auch eine analoge Arsenfestigkeit der Recurrensspirillen und Hühnerspirillen.

Die ersten Versuche in dieser Richtung wurden unter Leitung von Kolle, von Rothermundt und Dale ausgeführt. Sie behandelten Hühnerspirochäten $2^1/_2$ Monate lang durch 20 Passagen mit $^1/_3$ der wirksamen Dosis von Atoxyl. Es trat weder eine Festigkeit gegen Atoxyl noch gegen Salvarsan ein. Mit Recht wohl ziehen die Autoren den Schluß, daß demnach auch bei der Salvarsantherapie der Syphilis der Festigkeit keine praktische Bedeutung zukommt.

Gonder gelang dann die Festigung von Recurrensspirillen in Mäusen und von Spironema gallinarum in Hühnern und Reisvögeln. Durch vorsichtiges Ansteigen in 100 Passagen wurde der Recurrensstamm maximal fest gegen Salvarsan, d. h. gegen die toxische Dosis des Präparats. Auch Gonder mißt dieser Festigkeit keine praktische Bedeutung in Hinblick auf die Salvarsantherapie bei.

Was die Arzneifestigkeit bei Bakterien betrifft, so hat auch diese heute eine nicht unbeträchtliche therapeutische Bedeutung.

Marks erzielte in Ehrlichs Laboratorium mit vieler Mühe eine mäßige Festigung eines Paratyphusstammes gegen arsenige Säure und Antimon; dabei wurde auch das Verhalten des Stammes gegen spezifische Agglutinine verändert.

Shiga festigte gleichfalls unter Ehrlichs Leitung Choleravibrionen gegen verschiedene Farbstoffe, besonders der Methylenblaureihe. Ich bin aber durchaus im Zweifel, ob es sich bei dieser sehr rasch eintretenden Veränderung um eine irgendwie spezifische Festigung handelt. Schon Shigas Versuche zeigen in chemischer Richtung eine weitgehende Streuung. Ich konnte später den Vibrio Nasik leicht gegen Eucupin, gegen das er ziemlich empfindlich ist, festigen. Spätere orientierende Versuche zeigten Wechselwirkung zwischen Farbstoffen sehr verschiedener Konstitution und auch zwischen Methylenblau und Chinaalkaloiden.

Der gegen Eucupin gefestigte Vibrio Nasik hatte seine hämolytische Fähigkeit verloren und hat sie auch im Laufe von etwa 4 Jahren nicht wiedergewonnen.

Eine erneute sorgfältige Untersuchung dieses Falles, die technisch nicht schwierig ist, ist nötig.

Haendel und Baerthlein[1]) festigten einen Typhus- und Para-

1) Centralbl. f Bakt. I. Abt, Ref. Bd. 57. Beil. 1913. S. 196.

typhusstamm, die Chinin 1:2000—2500 vertrugen, gegen dieses Alkaloid und erreichten im Laufe von $1^1/_2$—2 Jahren eine Festigung um das 20—25fache; wie Chinin verhielt sich Optochin. Auf Normalnährböden sank die Resistenz allmählich. Virulenz, Giftigkeit und Beweglichkeit — trotz normaler Begeißelung — gingen verloren: die antigene Fähigkeit blieb erhalten, so daß die Autoren die Stämme für aktive Immunisierung und Serumgewinnung vorschlugen.

Ueber die Festigung von Pneumokokken liegen ältere Versuche aus meinem Laboratorium vor. Kaufmann festigte gegen Optochin im Tierversuch an der Maus und erzielte bereits nach 4 Passagen die maximale Festigkeit, die durch die Toxizität ziemlich begrenzt ist. Die Festigkeit blieb durch eine größere Anzahl von Tierpassagen erhalten; die Virulenz — dies ist im Zusammenhang mit den folgenden Ausführungen besonders zu beachten — blieb eine hohe, mindestens 1:10000 bis 1:100000. Koehne, Tugendreich und Russo festigten in vitro; der erheblich gefestigte Stamm war nicht avirulent, aber auf eine Messung der Virulenz wurde damals nicht geachtet. Ein später von mir gefestigter Stamm zeigte sehr bemerkenswerte Eigenschaften, ich übergehe ihn aber, weil auch seine Virulenz nicht definiert wurde.

Sie ersahen schon aus diesen Einschränkungen, daß an die bisherigen Festigkeitsversuche der Pneumokokken gegen Optochin in vitro eine erneute Kritik angelegt werden muß, und es ist nötig, auf diese veränderte Lage, die von grundsätzlicher Bedeutung ist, einzugehen.

Sie wissen, daß schon Neufeld und Haendel die Feststellung gemacht haben, daß avirulente Pneumokokken nicht mehr mit Sicherheit die Gallenreaktion geben. Wir haben diese Beobachtung vielfach bestätigt. Daß das Fehlen der Gallenreaktion und das Fehlen der Optochinempfindlichkeit in vitro — offenbar nur bei Stämmen mit erheblich verminderter Virulenz — zusammenfallen kann, beobachtete Nachmann. Der Parallelismus ist nicht konstant, denn Rochs beobachtete in unserem Laboratorium einen sehr wenig virulenten Pneumococcus, der die Gallenreaktion bei erhaltener Optochinempfindlichkeit verloren hatte, sie nach Tierpassage wieder gewann. Unsere vielfachen Erfahrungen kann ich dahin zusammenfassen, daß bei Züchtung in künstlichen Medien die Optochinempfindlichkeit der Pneumokokken in hohem Maße verloren gehen kann; der Zeitraum ist unbestimmt, häufig genügen wenige Wochen. Die Empfindlichkeit sinkt bei der üblichen Versuchsanordnung auf 1:100000 bis 1:20000. Die Virulenz sinkt bei solchen Stämmen von 1:10 Millionen und mehr bis auf 1:1000 bis 1:100 Tierpassagen heben Virulenz und Optochinempfindlichkeit oft nur sehr vorübergehend auf. Ich erwähne hier nur diese einfachen Zusammenhänge, während Sie über besondere Erscheinungen in dieser Richtung noch aus dem Vortrag meiner Mitarbeiter Schnitzer und Berger Näheres erfahren werden.

Es ergibt sich aber schon hieraus, daß die Festigung der Pneumokokken gegen Optochin nur dann als eine spezifische anerkannt werden kann, wenn sie bei erhaltener Tierpathogenität und Gallenreaktion durchgeführt wird, was bei den bisherigen Festigungen im Reagenzglas versäumt worden ist.

Herr Dr. Lewy hat deshalb in meinem Laboratorium die Versuche von neuem unter Wahrung aller Kautelen, vor allem mit regelmäßiger Einführung von Tierpassagen, für den gefestigten und den Kontroll-

stamm durchgeführt. Die Empfindlichkeit des Kontrollstammes war und blieb etwa 1:2 Millionen, der gefestigte Stamm ging im Laufe von etwa 4 Wochen auf 1:40000—20000 zurück; die Festigkeit ist also erheblich, 50—100fach. Die Virulenz von mehr als 1:1 Milliarde ist unverändert.

Es ist also leicht im Reagenzglas eine echte spezifische Optochinfestigkeit des Pneumococcus zu erzielen: der neugewonnene Stamm soll zur Bearbeitung verschiedener Fragen dienen. Hier sei nur hervorgehoben, daß die Bedeutung der stereochemischen Konfiguration, die wir schon früher aufgedeckt haben, von neuem auf das Klarste hervortritt. Der Stamm ist fest gegen Optochin und ganz normal empfindlich gegen das stereoisomere Aethylapohydrochinidin. Er ist fest gegen Chinin und Hydrochinin und nicht fest gegen Eucupin, Vuzin und Eucupinotoxin, auch nicht gegen Verbindungen mit fünfwertigem Stickstoff im Chinuclidinkern. Ein neuer Beweis für unsere alte Ansicht, daß bei den höheren Homologen des Optochins die Pneumokokkenwirkung auf einem völlig anderen chemotherapeutischen Prinzip als beim Optochin (auch Chinin und Hydrochinin) beruht.

Grundsätzlich kommt also eine echte Festigung und eine Pseudofestigung vor, die letztere konjugiert mit anderen wesentlichen Variationen. Befunde, wie sie Chesney und Moore bei optochinbehandelten Pneumoniekranken erhoben und als Festigkeit gedeutet haben, unterliegen der gleichen Betrachtung.

Ganz generell muß bezüglich der Festigung bei Streptokokken und Staphylokokken ein analoger Einwand gemacht werden. Uns ist sie trotz vieler Bemühungen mit einer großen Zahl von Substanzen und an zahlreichen Stämmen niemals gelungen. Auch eine Festigung der Gasbranderreger haben ich und Bieling nicht zustande gebracht, vielmehr beobachteten wir bei Züchtung in vuzinhaltigem Agar eine Erhöhung der Empfindlichkeit. Man kann leicht und rasch Streptokokkenstämme herstellen, die eine anscheinend erhebliche Festigkeit z. B. gegen Rivanol oder Trypaflavin aufweisen, aber sie sind avirulent, nicht selten anhämolytisch.

Wir wissen aus zahlreichen, noch zu besprechenden Untersuchungen unseres Laboratoriums, daß diese Art der Festigkeit als Folge des unspezifisch erzielten Virulenzsturzes eintritt. Deshalb ist sie auch in chemischer Hinsicht ohne scharfe Spezifität. Ihre Anwendung auf die Analyse der Chemoceptoren würde zu den schwersten Irrtümern und Fehlschlüssen führen.

In das Gebiet der Chemoflexion — und ich habe von diesem Standpunkt aus schon vor 10 Jahren die Erwartung derartiger Ergebnisse ausgesprochen — gehören die bedeutungsvollen Versuche Schnabels über die spezifische therapeutische Empfindlichkeitserhöhung von Bakterien. Diese tritt bei Pneumokokken unter der Einwirkung ungemein geringer Optochinkonzentrationen bei Streptokokken in analoger Weise durch Trypaflavin ein. Die hohe Bedeutung derartiger Vorgänge für die Chemotherapie ergibt sich ohne weiteres, umsomehr, als die Vorgänge nach Schnabel und Kasarnowsky auch im Tierkörper stattfinden. Die Reagenzglasversuche Schnabels an Pneumokokken mit Optochin konnte Ramsin in unserem Laboratorium bestätigen, der Tierversuch bedarf wohl noch der Ergänzung mit Verwendung ursprünglich hochempfindlicher Pneumokokken. Nicht unerwähnt

darf hier eine neuerdings von H. Braun und Cahn-Bronner inaugurierte Forschungsrichtung bleiben. Die Autoren untersuchten nach verschiedenen Richtungen die Variationen des Paratyphus B bei Züchtung auf einfachsten Nährböden. Ihre Feststellung, daß die im einfachsten Nährboden aufgewachsenen Keime empfindlicher gegen keimtötende chemische Einflüsse sind, führt zu entsprechenden Feststellungen in chemotherapeutischer Hinsicht, welche in höherem Maße als bisher die Beschaffenheit des Kulturmediums berücksichtigen.

Bei der chemotherapeutischen Heilung der Trypanosomeninfektion spielt eine bedeutungsvolle Rolle die Entstehung der „Rezidivstämme". Die grundlegenden Arbeiten hierüber, besonders von Ehrlich, Roehl und Gulbranson sind Ihnen bekannt, besonders bemerkenswert ist die hier eintretende Variation durch ihre Schnelligkeit; das Zeitmaß des Vorgangs zählt nach wenigen Stunden, vielleicht nach Minuten.

Ehrlich und seine Mitarbeiter haben teils durch Immunisierung mit Rezidivstämmen, teils durch Behandlung von Trypanosomen mit Immunserum ungefähr 6 verschiedene Rassen (Ritz) erzeugt. Es galt als selbstverständlich, daß wenigstens die ersten, unter gleichartigen Bedingungen entstandenen Rezidivstämme unter sich identisch seien. Daß dies nicht der Fall ist, hat zuerst mein Mitarbeiter Neumann nachgewiesen, Braun und Teichmann bestätigt.

Ritz bestätigte in zahlreichen Versuchen die Feststellung Neumanns, daß schon der erste Rezidivstamm keine konstante Form darstellt, sondern sich oft immunisatorisch verschieden verhält. Immerhin fand sich in mehreren Versuchen auch eine Identität der ersten Rezidivstämme, so daß Ritz geneigt ist, mit Ehrlich anzunehmen, daß diese mehrfach auftretende Form besonders leicht entsteht, also eine begünstigte ist.

Ritz führte 1914, noch unter Ehrlichs Leitung, sehr wichtige und mühsame Versuche aus, in welchen er durch immer erneute Abheilung mit geeigneten Dosen von Neosalvarsan die Möglichkeiten der Rezidivstammbildung bei einer einzelnen Maus für den Naganastamm „Prowazek" festzustellen suchte. Die entstandenen Rezidivstämme wurden in Mäusen weitergezüchtet; die Prüfung der einzelnen Rezidivstämme erfolgte nach der von Ehrlich angegebenen Versuchsanordnung in der Weise, daß mit jedem einzelnen Stamm eine ganze Serie von Mäusen infiziert wurde, auf der Höhe der Infektion mit Salvarsan 1:1000 intravenös geheilt und aus jeder Serie je eine Maus mit jedem der gewonnenen Stämme nachinfiziert wurde. Es wurde also jeder Stamm gegen alle andern Stämme immunisatorisch ausgewertet.

Bei den beiden Mäusen nun, über die er eingehende Mitteilung macht, fand Ritz siebzehn verschiedene Rezidivstämme, wobei die ersten Rizidivstämme, die nicht geprüft wurden, in Wegfall kommen. Er stellte dabei die bemerkenswerte Tatsache fest, daß auch Mischungen von Rezidivstämmen vorkommen und zwar handelt es sich um die Mischung von Trypanosomentypen mit verschiedenen Rezeptoren und nicht um eine Trypanosomenrasse mit kompliziert gebautem Rezeptorenapparat (Binio, Plurio im Sinne Ehrlichs). Auch der Rezeptorenapparat des Ausgangsstammes sowie früherer Rezidivstämme kann im Laufe der Zeit wiederkehren. Ritz macht mit Recht die Voraussetzung, daß dann die korrespondierenden Antikörper wieder abgeklungen sein müssen. Die Beobachtung, daß auch Rezidive ohne

Rezidivstammbildung vorkommen, führt Ritz auf eine Erschöpfung des Wirtsorganismus in bezug auf die Antikörperbildung zurück.

Daß bei den beiden gründlich untersuchten Mäusen auch die gleichen Typen von Rezidivstämmen wiederkehrten, nimmt nicht Wunder. Es wurden im ganzen 22 verschiedene Modifikationen erhalten, ohne daß es möglich war, die Zahl der Variationsmöglichkeiten zu erschöpfen.

Daß bei den Rezidivstämmen eine Mischung von Individuen mit verschiedenen Rezeptorentypen vorliegen kann, bewies Ritz teils durch Anwendung der Oehlerschen Isolierungsmethode und Infektion mit Einzeltrypanosomen, teils, im Anschluß an Rosenthal, durch Vorbehandlung mit den einzelnen Komponenten und spätere Reinfektion mit dem zu prüfenden Stamm, wodurch eine allmähliche Reinigung erfolgte. Für die Häufigkeit des Auftretens solcher Mischstämme sprechen schon Ehrlichs und Roehls Beobachtungen von „Plurionen", die in Uebereinstimmung mit Ritz auf multiplen Rezidivstammbildungen beruhend anzusehen sind.

Die sorgfältige Analyse der Trypanosomen-Rezidivstämme durch Ritz gab auch Aufschlüsse über Permanenz der Rezidivstämme in den Passagen durch Mäuse. Reine Stämme verändern ihren Rezeptorencharakter in mehr als 100 Passagen, d. h. im Laufe von 200 bis 300 Tagen, nicht, entsprechend den Angaben Ehrlichs und seiner Mitarbeiter. Eigens auf diese Frage gerichtete, sehr elegante Versuche zeigen, daß eine „Zurückverwandlung" von Rezidivstämmen in den Ausgangsstamm nur dann stattfindet, wenn erstere Mischstämme sind; so verschwand in einem Fall eine der Rezidivstammkomponenten als erste nach $1^1/_2$ Monaten, und nach etwa 5 Monaten war nur noch der Ausgangsstamm immunisatorisch nachweisbar.

Diese scheinbare Rückbildung variierter Stämme durch Entmischung und Ueberwucherung ist analog dem Verhalten der blepharoblastfreien Stämme, wie sie durch Behandlung mit Farbstoffen der Akridin- und Oxazinreihe erzielt werden. In analoger Weise hat Oehler bei der Mischung von arzneifesten und arzneiempfindlichen Stämmen, auch wenn die Individuen des letzteren von Anfang an stark in der Minderzahl waren, ein endliches Ueberwuchern des empfindlichen Stammes gezeigt.

Es handelt sich also bei der Serumfestigkeit ebenso wie bei der Arzneifestigkeit um eine Veränderung von erheblicher Konstanz; Beobachtungen über eine begrenzte Dauer der Modifikation haben nur dann Wert, wenn eine Ueberwucherung ausgeschlossen, wenn also eine reine Linie aus einem typisch veränderten Individuum der Beobachtung zugrunde gelegt ist. Die Angaben meines Mitarbeiters Neumann, sowie von Braun und Teichmann, Rosenthal über das Zurückschlagen von Rezidivstämmen in den Normalstamm müssen von diesem Standpunkt aus revidiert werden.

Veränderungen anderer Art, die mit der Bildung der Rezidivstammeigenschaft fest gekoppelt sind, kennen wir nicht, doch ist es von Interesse, daß Rezidivstämme erheblich empfindlicher gegen Heilmittel sein können, als der Ausgangspunkt. Es ist das vielleicht die gleiche „Debilität", die zur endlichen Ueberwucherung durch den Ausgangsstamm führt. Diese Erscheinung kam gegenüber Salvarsan, Tryparosan, Trypaflavin, 3—6-Diamino-Acridin, Trypanrot und nach Ritz gegenüber Trypanblau zum Ausdruck.

Ritz hat seine Untersuchungen unter den gleichen Gesichtspunkten auf die chronisch verlaufende Naganainfektion des Kaninchens ausgedehnt und hier nach der ersten und einzigen Krisis bis zum Tod der Tiere von Tag zu Tag wechselnde Rezidiv-Mischstämme festgestellt, mit Verschwinden vorhandener und Auftauchen neuer Typen; der Ausgangsstamm verschwindet aus dem Blut. Die Variationsmöglichkeit erscheint auch hier sehr groß, Ritz gebraucht sogar den Ausdruck „unerschöpflich" und hat vielleicht damit recht.

Von Bedeutung in therapeutischer Hinsicht erscheint es mir nun, daß die Bildung der Rezidivstämme durch chemotherapeutische Agentien gehindert werden kann. Diese „antimutative" — der Ausdruck ist nicht korrekt — Beeinflussung äußert sich auch nach Ausschaltung des Heilmittels. In besonderem Maße kommt nach Untersuchungen von Freund und mir diese Eigenschaft dem „Bayer 205" zu; sie fehlt aber offenbar auch nicht ganz dem Salvarsan und dem Stibenyl. Wenn es gelingen sollte, was ich nicht bezweifle, durch chemische Variation diese Eigenschaft zu steigern, so dürfte ein großer Gewinn, speziell für die Kombinationstherapie, erzielt werden.

Die Bedeutung der Rezidivstammbildung für die Pathologie der Spirillosen hatte Ehrlich schon eingehend betrachtet; Ritz möchte ihr auch bei den Rezidiven bakterieller Infektionen eine gewisse Rolle beimessen, eine Auffassung, die auch Neufeld in jüngster Zeit zum Ausdruck brachte. Die Erzeugung rezidivierender Streptokokkeninfektionen bei Mäusen, wie sie mir gemeinsam mit L. Abraham gelungen ist, gibt die Möglichkeit, diese Vermutung experimentell zu prüfen. Unsere bisherigen Versuche haben keinen Anhaltspunkt ergeben, daß eine Festigkeit der Streptokokken gegenüber dem primär verwendeten Streptokokkenserum im Verlaufe der Rezidive eintritt. Ich habe deshalb bis auf weiteres keine Veranlassung, rezidivierenden bakteriellen Infektionen gegenüber von den Vorstellungen der „Depressionsimmunität", welche gerade eine Konstanz der pathogenen und Rezeptoreneigenschaften voraussetzt, abzugehen, um so weniger, als die Versuche meiner Mitarbeiter Schnitzer und v. Kühlewein das Latentbleiben virulenter Streptokokken zeigen, unter Bedingungen, die durchaus der Entstehung von Rezidivstämmen günstig wären.

Die Schwierigkeiten für eine Serumtherapie bakterieller Infektionen liegen wohl vorläufig in der primären Verschiedenheit des Rezeptorenapparates der einzelnen Typen; Sie kennen diese an dem Beispiel der Pneumokokken, wo durch die grundlegenden Versuche von Neufeld und Haendel ein Einteilungsprinzip geschaffen worden ist, über dessen Ausgestaltung auch in praktischer Hinsicht durch die Forscher des Rockefeller-Instituts Neufeld 1921 einen gründlichen Bericht gegeben hat. Daß die Rezidivstammbildung bei den Protozoeninfektionen, insbesondere den Trypanosomeninfektionen, und bei den Spirillosen einer Serumtherapie erhebliche, wenn nicht unüberwindliche Schwierigkeiten in den Weg legt, ist eine seit Ehrlich oft, auch von mir vertretene Ansicht. Ob sie in dieser allgemeinen und bestimmten Form richtig ist, erscheint mir aber doch nicht ganz sicher. Wir sind über die Bedingungen der Superinfektion bei der Syphilis des Menschen besser unterrichtet als je, und nichts spricht dafür, daß neu eindringende Spirochäten sich den durch die ursprüngliche Infektion unterhaltenen „depressiven" Antikörpern entziehen, indem sie Festigkeit gewinnen; dem

Dilemma kann man allerdings entgehen, wenn man nach meinem Vorgang den hier maßgebenden Antikörpern eine besondere Stellung gegenüber den bis jetzt bekannten, immunisatorisch erzeugten Antikörpern einräumt.

Bei Trypanosomeninfektionen ergaben die auf breiter Basis angelegten Versuche von Braun und Teichmann, auch Schillings Versuche, immerhin recht gute Resultate mit aktiver und passiver Immunisierung. Die Durchbrechung der Immunität durch Rezidivstammbildung ist bei Braun und Teichmann geringer und seltener, als man erwarten sollte. Man kann die Vermutung nicht von der Hand weisen, daß in den Versuchen von Braun und Teichmann andersartige Antikörper dominieren, als bei der chemotherapeutischen Abheilung von Trypanosomenmäusen und der Entstehung von Rezidivstämmen maßgebend sind. Bekanntlich ergab sich in ihren äußerst sorgfältigen systematischen Versuchen, daß — in Uebereinstimmung mit Beobachtungen anderer Autoren, und im Gegensatz zu den Beobachtungen bei chemotherapeutischer Abheilung — die Trypanosomen der Dourine, des Mal de Caderas und der Nagana „weitgehende immunisatorische Gemeinsamkeiten" besitzen. Die hier ausgesprochene Vermutung erscheint mir nicht ganz haltlos angesichts der neuen, ungemein interessanten Untersuchungen von Avery und Heidelberger, denen es gelungen ist, als „Typen-Antigen" ein Kohlehydrat von einem Protein als „Spezies-Antigen" bei Pneumokokken zu isolieren.

Für die theoretische und praktische Beurteilung der ganzen Frage ist es von Bedeutung, welche Stellung man zu der Anschauung nimmt, daß nicht die trypanoziden Antikörper als solche die Rezidivstammbildung auslösen, sondern eine besondere Art von Antikörpern, die gleichzeitig mit jenen, ebenfalls durch den Untergang der Trypanosomen ausgelöst, aber doch unabhängig entstehen. Diese Ansicht ist in einer, aus meinem und Minkowskis Laboratorium hervorgegangenen Arbeit von F. Rosenthal, die niemals die verdiente Beachtung gefunden hat, vertreten und experimentell gestützt worden. Ritz (II. Mitt.) ist geneigt, angesichts der von Tag zu Tag erfolgenden Umwandlung des Rezeptorenapparats der Trypanosomen im Kaninchenblut ohne wesentliche Reduktion der Zahl sich der Auffassung Rosenthals anzuschließen. Schließt man sich den Ansichten Rosenthals, die ich auch vertrete, an, dann erscheinen auch technische Möglichkeiten zur Ueberwindung der Schwierigkeiten gegeben. Praktisch bin ich allerdings der Ansicht, daß die Serumtherapie den Vorsprung der Chemotherapie auf diesen Gebieten nicht einholen wird, und daß man die größeren Anstrengungen der letzteren zuwenden soll.

Die Rezidivstammbildung bei der Recurrensinfektion der Maus wurde von Kudicke und Feldt im Georg Speyer-Haus einer sehr eingehenden Untersuchung unterzogen, von der nur die wesentlichsten Ergebnisse erwähnt werden können. Die nach Abheilung mit Salvarsanpräparaten auf der Höhe der Infektion gewonnenen Rezidivstämme erwiesen sich als Gemische von Ausgangs- und Rezidivantigen mit der Neigung, sich in den Ausgangsstamm zurückzuverwandeln. Auch gereinigte Rezidivstämme wurden wieder zum Ausgangsstamm. Die erhaltenen Rezidivstämme zeigten auch untereinander Verschiedenheiten; die Zahl der Modifikationen ist mindestens drei, wahrscheinlich größer, die Reihenfolge für die Entstehung der einzelnen Rezidivstämme ist auch hier wechselnd.

Bezüglich der Ursache für die endgültige Heilung gelangen Kudicke und Feldt zu wesentlich anderen Schlüssen als Ehrlich, der diese in der Erschöpfung der Rezidivstamm-Möglichkeiten sah. Sie sehen die Zahl der möglichen Modifikationen für größer an als die Zahl der tatsächlichen Rezidive. Daß trotzdem die Erkrankung nach einer beschränkten Anzahl von Rückfällen ihr Ende findet, liegt in erster Linie daran, daß die Spirillen mit weitergehender Rezidivstammbildung eine Abschwächung der Virulenz erfahren, die auch beim Uebergang auf neue Tiere erhalten bleibt. Auf die weiteren Versuche von Kudicke, Feldt und Collier muß ich mir versagen hier einzugehen, da sie noch keine Zusammenhänge mit therapeutischen Fragen bieten.

Ich muß nun auch auf eine weitere Erscheinung der Variabilität zurückkommen, und zwar nur, soweit sie mit therapeutischen Fragen zusammenhängt, nämlich auf die Veränderungen der Virulenz. Hier liegen Untersuchungen an Bakterien, im wesentlichen an Streptokokken, vor.

Wie Ihnen bekannt ist, erfährt ein gewisser Teil einer in den Organismus der Maus eingebrachten hämolytischen Streptokokkenpopulation nach den Versuchen von Morgenroth, Schnitzer und Munter einen Sturz der Virulenz, der sich kulturell meist in einer „Vergrünung" beim Wachstum auf der Blutplatte ausprägt.

Diese Variation spielt nun zunächst eine gewisse Rolle bei der Wirkung des Streptokokkenserums, wenigstens im Versuch am Tier, der einzigen Anordnung bisher, bei welcher wir Sicheres über Wirkung überhaupt und Wirkungsweise dieses Serums aussagen können.

Wie ich in gemeinsam mit Abraham angestellten Versuchen gezeigt habe, ist die Wirkung des Streptokokkenserums bei geeigneter Versuchsanordnung und zwar bei intravenöser Infektion der Mäuse so aufzufassen, daß durch das spezifische Serum nur die rasche Ausbildung der akut tödlichen Allgemeininfektion verhindert wird. Es kommt jedoch zu einer chronischen Infektion von remittierendem Typus, bei welcher unter dem Einfluß fluktierender Immunitätsvorgänge bakteriaemischer Schub und Krise abwechseln. Als Ausdruck der virulenzherabsetzende Kräfte des Organismus, nicht des Streptokokkenserums, erscheint im Schub unter Umständen eine rein grüne Population von Streptokokken im Blute. Rückschläge der avirulenten Form in die hämolytische, virulente Ausgangsform, kommen sowohl bei der Fortzüchtung als auch besonders im Tierkörper vor; wie nach früheren Beobachtungen mit Sicherheit anzunehmen ist und meine eben geschilderten Versuche erneut bewiesen, tritt auch bei ein und demselben Tiere unter Umständen der Rückschlag ein und es erfolgt dann ein Schub mit virulenten Keimen, dem die Tiere erliegen können.

In bezug auf die Beeinflußbarkeit durch chemotherapeutische Antiseptica nehmen die grünen, avirulenten Streptokokken eine Sonderstellung ein. Diese avirulenten Streptokokkenformen weisen im Vergleich zu ihren hämolytischen Ausgangsstämmen eine oft erhebliche Verminderung der Empfindlichkeit gegenüber Rivanol auf, während die spezifische Vuzinempfindlichkeit nicht oder nicht wesentlich vermindert ist.

Der Rückgang der Beeinflußbarkeit durch Rivanol in vitro weist verschiedene Grade auf und umfaßt Werte von $^1/_2$ bis $^1/_{32}$ der Empfindlichkeit der entsprechenden hämolytischen Stämme. Auch im sub-

kutanen Desinfektionsversuch an der Maus äußert sich der Unterschied in der gleichen Richtung, schwankend von $^1/_2$ bis $^1/_{150}$. Das Verhalten trifft sowohl für solche Stämme zu, die experimentell in der Bauchhöhle der Maus nach dem Verfahren von Schnitzer und Munter in den avirulenten Zustand übergeführt worden sind, als auch für spontan vergrünte Streptokokken.

Der Uebergang in die avirulente und minder empfindliche Modifikation kann nun — und das ist in therapeutischer Hinsicht von besonderem Interesse — auch durch Einwirkung chemotherapeutischer Agentien herbeigeführt werden. Bereits vor mehreren Jahren habe ich auf derartige Erscheinungen, die in Reagenzglasversuchen an hämolytischen Streptokokken mit den Antiseptica der Hydrocupreinreihe beobachtet wurden, hingewiesen und die Zonenbildung beschrieben, die unter diesen Versuchsbedingungen auftritt. Sie besteht darin, daß zwischen die Zone völliger Abtötung und derjenigen ungehemmten hämolytischen Wachstums eine solche mit Wachstum avirulenter und anhämolytischer Streptokokken eingeschaltet ist. In zahlreichen Versuchen mit antiseptisch wirksamen Verbindungen aus der Reihe der Aminoakridine haben wir diese Erscheinung wiederholt feststellen können, und zwar ergab die genauere Analyse derartiger Versuche, daß ganz besonders ältere, schon mehrere Wochen im Laboratorium fortgezüchtete Streptokokkenstämme die Neigung haben, unter der Einwirkung der Antiseptica, besonders des Rivanols, die avirulente, durch anhämolytisches Wachstum gekennzeichnete Modifikation zu bilden. Man geht wohl nicht fehl mit der Annahme, daß auch hier die länger dauernde Züchtung auf künstlichen Medien einen Zustand latenter Modifikationsbereitschaft bedingt, der dann durch die Einwirkung des Antiseptikums in der Richtung der avirulenten Modifikation weitergeführt wird.

Im subkutanen Desinfektionsversuch an der Streptokokkenphlegmone der Maus kommt die „Vergrünung" der Streptokokken seltener und vor allem in einer ganz anderen Form zur Beobachtung, die einen Vergleich mit dem Virulenzsturz in vitro gar nicht zuläßt. Insbesondere ist die Bildung breiter Zonen avirulent gewordener Keime nicht festzustellen, und in einem sehr großen Material vergleichender Versuche trat kein Mal parallel der Virulenzsturz in vitro und in vivo auf. Vielleicht sind die kürzlich von meinen Mitarbeitern Amster und Rother mitgeteilten Beobachtungen über den zeitlichen Verlauf der Gewebsdesinfektion mit Rivanol zur Deutung dieser Erscheinungen heranzuziehen. Nach diesen Versuchen tritt die abtötende Wirkung des Rivanols im Gewebe sehr rasch ein und erreicht schon nach 1—4 Stunden ihr volles Ausmaß, während der Desinfektionsprozeß in vitro langsamer verläuft, daher die Möglichkeit zur Entfaltung der virulenzabschwächenden Funktion gibt und die reaktive Ausbildung avirulenter, resistenterer Modifikationen u. U. begünstigt. Dafür sprechen auch die Befunde, die ich mit Schnitzer und Berger in Versuchen erhalten habe, in denen statt des gelösten Rivanols an rote Blutkörperchen bzw. an Hefe gebundenes Rivanol zu Desinfektionsversuchen in vitro und vivo angewandt wurde. Während im Tierversuche es nie zu einer Vergrünung irgendwie beträchtlichen Grades kam, sondern das gebundene Rivanol lediglich seine bakterizide Wirkung entfaltete, erfolgte in vitro sehr häufig und in oft außerordentlich breiten Zonen, die bereits bei den stärksten Konzentrationen begannen,

die Modifikation der Streptokokken, d. h. ihr Uebergang in die avirulente „vergrünte" Form.

Diese Versuche weisen entschieden auf die hohe Bedeutung der Virulenzbeeinflussung durch chemotherapeutische Agentien hin, die mit der Bakterizidie in recht verwickelter Weise zusammenwirkt, unter Umständen konkurriert.

Die virulenzherabsetzende Fähigkeit chemotherapeutischer Antiseptica hatte ich bereits gemeinsam mit Tugendreich in Reagenzglasversuchen mit Eukupin an hämolytischen Streptokokken beobachtet. Streptokokken, die in nicht mehr abtötender und auch nicht wachstumshemmender Eukupinkonzentration gewachsen waren, töteten Mäuse bei ip. Infektion nicht mehr.

Wie Schnitzer und Amster aus meinem Laboratorium mitteilten, gelingt es in analoger Weise im üblichen Reagenzglasversuch mit Rivanol, durch einmalige Einwirkung des Antiseptikums eine oft recht erhebliche und — was hervorzuheben sei — bei weiterer Fortzüchtung konstante Virulenzabschwächung der Streptokokken durch geringe, nicht mehr bakterizide Konzentration zu erzielen, wobei als Maß der Virulenz die Phlegmonenbildung bei subkutaner Injektion gewählt wurde. Die hämolytische Fähigkeit der Keime war in diesem Falle nicht beeinträchtigt. Daneben besteht eine sehr schmale Zone sehr niedriger Rivanolkonzentrationen, durch welche auch eine virulenzerhöhende Wirkung hervorgerufen wird.

Die in einmaliger Passage durch rivanolhaltige Bouillon in ihrer Virulenz abgeschwächten Streptokokken besitzen noch völlig die ursprüngliche Rivanolempfindlichkeit. Es ist aber leicht möglich, durch länger fortgesetzte Rivanolbehandlung diese Empfindlichkeit herabzusetzen, so daß schließlich bis 8 Mal stärkere Konzentrationen des Antiseptikums vertragen werden. Schon der Umstand, daß derartige Stämme, wie auch Jungeblut und Laqueur, Sluyters und Wolff beschrieben, gleichzeitig eine Festigung gegenüber Trypaflavin aufweisen, ist geeignet, Bedenken an der Natur dieser Erscheinungen als spezifische Festigungen zu erwecken. Denn, wie die hier vor 2 Jahren vorgetragenen Festigungsversuche an Trypanosomen erwiesen haben, nehmen die 9-Aminoakridine biologisch eine Sonderstellung innerhalb der Akridinverbindungen ein, und eine spezifische Festigung gegen Repräsentanten aus der Gruppe des 9-Aminoakridins führt nicht zu einer Trypaflavinfestigung und umgekehrt. Vor allem aber spricht dagegen die Tatsache, daß untrennbar von dem Empfindlichkeitsverlust ein oft bis zum Virulenzsturz führender Verlust der pathogenen Eigenschaften eintritt. Derartige Erscheinungen gehören, wie oben bereits begründet wurde, in das Gebiet der „Pseudofestigkeit", d. h. es handelt sich um tiefgreifende Modifikationen, die in der Richtung der Vergrünung liegen.

Endlich ist noch darauf hinzuweisen, daß es nach Versuchen meines Mitarbeiters Freund unschwer gelingt, wenig virulente grüne Streptokokken durch Einwirkung von Rivanol im Subkutangewebe der Maus in höher virulente, hämolytische überzuführen, die aber noch keine erhöhte Rivanolempfindlichkeit besitzen.

Die Modifikationen der Mikroorganismen in bezug auf die therapeutische Bedeutung lassen sich in zwei verschiedene Gruppen trennen. Der einen Gruppe gehören diejenigen Modifikationen an, die unter dem Einfluß therapeutischer Agentien stehen; ihre bekanntesten Bei-

spiele sind die Arzneifestigkeit und die Chemoflexion sowie die Empfindlichkeitserhöhung. Es sind Modifikationen spezifischer Art; die Variation und der Grad derselben wird mit Hilfe der spezifischen, sie auslösenden Agentien gemessen. Die andere Gruppe von Erscheinungen kann man als unspezifische Modifikationen bezeichnen; sie werden durch Einflüsse anderer Art oder auch durch solche hervorgebracht; hierher gehört der Virulenzsturz mit seinen Folgen für die therapeutische Beeinflußbarkeit und ebenso die Virulenzerhöhung, hierher gehört die von uns von den spezifischen Variationen abgetrennte „Pseudofestigkeit".

Das Gebiet der Variabilität, das hier geschildert wurde, zeichnet sich dadurch aus, daß eine weitgehende Gewalt des Experimentators über die Erscheinungen besteht. Für die willkürliche Hervorrufung der Modifikationen gibt es einfache und vielfach sichere Verfahren. Die Modifikationen sind oft leicht nachweisbar und tiefgreifend. Die Zahl der Artmerkmale, die bisher berücksichtigt wurde, ist nicht sehr groß und es ist begreiflich, daß bei ihrer Auswahl der medizinisch-therapeutische Gesichtspunkt prävaliert. Mit dieser Einschränkung darf man sagen, daß man durch experimentelle Eingriffe Veränderungen erzeugt, die zur Aufstellung einer neuen Spezies genügen würden. Wenn z. B. ein Naganastamm durch Behandlung mit Pyronin seinen Blepharoblast verliert, fest gegen Pyronin, aber auch gegen Arsenverbindungen erscheint, sich in antigener Hinsicht völlig von dem Ausgangsstamm unterscheidet, so würde jemand, der die Genese des Stammes nicht kennt, ihn zunächst unbedenklich als eine neue Art ansprechen.

Die ungeahnt große Variabilität der Mikroorganismen, vor allem der Trypanosomen, in chemotherapeutischer Hinsicht führt zu einer dynamischen Auffassung der chemotherapeutischen Vorgänge. Das „chemotherapeutische Zielen" im Sinne Ehrlichs erfolgt, um in diesem Bilde zu bleiben, nicht auf eine Standscheibe, sondern auf eine Laufscheibe, oder, besser gesagt, auf ein höchst flüchtiges, lebendiges Wild. Der Therapeut steht seinen Mikroorganismen gegenüber, wie Menelaos dem alten Proteus:

„Doch sogleich entsann er sich listiger Künste;
Erstens verwandelt' er sich in einen mähnigen Löwen,
Dann in Drachengestalt; ein Pardel, ein riesiger Eber
Ward er, fließendes Wasser, ein Baum mit lustigem Wipfel . . .
Wir aber ließen nicht los, wir hielten ihn stetigen Mutes."

Diese Fülle der Gegenreaktionen, diese ungeahnte Wandlungsfähigkeit bildet eine zunächst große Erschwerung für den therapeutischen Fortschritt, aber sie bietet dafür eine Reihe biologisch wichtiger Probleme, für deren Bearbeitung alle Bedingungen gegeben sind, und deren eingehendes Studium uns auch einmal mit einem großen und nicht vorauszuahnenden Ruck der Erreichung therapeutischer Ziele zuführen kann.

Aussprache.

Kisskalt (Bonn): Wie jede Naturwissenschaft kann auch die Epidemiologie induktiv oder deduktiv getrieben werden. Im letzteren Falle, den der Referent gewählt hat, werden aus den Eigenschaften der Bakterien, ihren Fundorten, den Eigenschaften des befallenen Organismus die Vorgänge bei der Seuchenentstehung und -verbreitung abgeleitet. Soweit die Elemente, aus denen die Ableitung geschieht, genau bekannt sind, ist diese Art der ätiologischen Forschung die einzig

exakte. Jedoch können diese Grundlagen gelegentlich wanken, wie sich bei der jetzt höher eingeschätzten Variabilitätsfrage zeigt. — Infolgedessen ist die induktive Seuchenforschung nicht zu entbehren, die die Seuchen als Phänomen studiert und analysiert. Sie stützt sich auf Berichte und Statistiken und ergibt die zuverlässigsten Resultate, wenn beides vorhanden ist. — Als Beispiel der Darstellung wurde die schwere Diphtherieepidemie gewählt, die ab 1849 als Vorepidemie, ab 1860 als Hauptepidemie von Osten (nicht, wie bisher angenommen, von Frankreich) ausgehend Europa überzog. — Es folgte die Demonstration einer Anzahl Kurven; die Untersuchungen werden demnächst ausführlich in der Zeitschrift für Hygiene erscheinen. — In ähnlicher Weise durchzog die Epidemie 1583—1642 Spanien und Italien unter dem Namen Garrotillo.

Nißle (Freiburg i. B.): Ein Variieren von Bakterien im menschlichen Körper kann man auch bei der Mutaflorbehandlung häufiger beobachten, deren Prinzip darin besteht, antagonistisch hochwertige menschliche Colistämme im Patientendarm anzusiedeln und dadurch die bisherige Darmflora zu verdrängen. Es gelingt dies nicht nur beim Menschen, sondern, wie neuerdings Chilkowski nachgewiesen hat (Dissertation, Freiburg 1924), auch bei Tieren, in deren Serum sogar teilweise Agglutinine gegen den menschlichen Stamm auftreten.

Nach Abschluß der Mutaflorkur bleibt der Behandlungsstamm entweder in seinen biologischen Eigenschaften unverändert (längste Beobachtung $2^1/_2$ Jahre) oder er erleidet — auch in klinisch geheilten Fällen — eine allmähliche mehr oder minder starke Herabsetzung seiner bisherigen Wertigkeit. Man trifft ein derartiges Verhalten z. B. nicht selten bei chronischen Colitiden, häufiger noch bei perniziösen Anämien an, von denen ein Teil — jedoch anscheinend nur ein kleiner (Pathogenese offenbar nicht einheitlich) — durch Mutaflor günstig beeinflußt bzw. geheilt werden kann (erstbehandelter Fall seit 5 Jahren rezidivfrei).

Die Prüfung der Identität der nach der Behandlung ausgeschiedenen Colibakterien mit dem Mutaflorstamm kann geschehen

a) durch Feststellung des Coliindex, der den Grad der antagonistischen Wertigkeit, gemessen an Typhusbazillen, kennzeichnet (Technik D. med. Woch. 1916. Nr. 39);

b) durch Agglutinationsversuch unter Verwendung eines dem Mutaflorstamm homologen Serums. Solche Sera, die leicht herzustellen sind (Titer oft 1:50000 und mehr), reagieren nur mit hochwertigen Colistämmen.

Ein Sinken der Wertigkeit des angesiedelten Colistammes ist daher mit einem gleichzeitigen Sinken seiner Agglutinierbarkeit verbunden; beide Merkmale variieren also regelmäßig parallel.

Schnitzer (Berlin): siehe Nr. 41 (Schnitzer und Berger, S. 292*).

Nachmittagssitzung. Vorsitzender: Schnürer (Wien).

Gins (Berlin): Um einen Beitrag zur Frage der Variabilität des Diphtheriebazillus zu liefern, haben wir einen toxischen Stamm vermittels der Hodeninjektion — die sich übrigens zur Prüfung auf Toxizität sehr gut bewährt — durch bisher 14 Meerschweinchen geschickt, herausgezüchtet und morphologisch und auf Giftbildung geprüft. Es ließen sich keinerlei Veränderungen nachweisen.

Bei der Abspaltung aus Diphtheriekulturen sollte mehr als bisher an die Symbiose zwischen Diphtherie und Diphtheroïden gedacht werden. Wir haben experimentelle Unterlagen für die Tatsache, daß mehrmaliges Abimpfen von isolierten Kolonien nicht zur Trennung der beiden in der Kolonie enthaltenen Stämme geführt hat.

Die echte generalisierte Vakzine — nicht das Eczema vaccinatum, welches oft mit ihr zusammengeworfen wird — halte ich für einen Rückschlag des Vakzinevirus in der Richtung des Variolavirus. Dieses Krankheitsbild hat den typischen Verlauf der Variola inoculata. Der einzige Unterschied besteht darin, daß spontane Infektionen noch nicht beobachtet worden sind. Wenn es möglich wäre, höchstempfänglichen Individuen das Vakzinevirus in Gestalt von frischem Rohstoff durch Inhalation einzuverleiben, würde die Generalisierung wahrscheinlich öfter beobachtet werden. Bei weiteren Passagen vermittels der Inhalation würde ich den Rückschlag in Variola vera nicht für unwahrscheinlich halten.

Das Vakzinevirus darf m. E. auf Grund unserer jetzigen Kenntnisse nicht

für eine Mutation des Variolavirus angesehen werden, sondern eher als eine „Dauermodifikation" im Sinne von Jollos. Die Möglichkeit eines Rückschlages in die Ausgangsform wird damit zugegeben.

Reichenbach (Göttingen) weist noch einmal darauf hin, daß der Begriff der Festigkeit häufig in ganz verschiedenem Sinne gebraucht werde. Man versteht darunter einmal die Unempfindlichkeit gegen die entwicklungshemmende Wirkung eines Mittels, ein anderes Mal die Widerstandsfähigkeit gegen die abtötende Kraft. R. schlägt dafür die Bezeichnungen Entwicklungsfestigkeit und Abtötungsfestigkeit vor. Beide sind unabhängig voneinander, insbesondere braucht mit der Entwicklungsfestigkeit keine Abtötungsfestigkeit verbunden zu sein. Bacterium coli läßt sich leicht gegen das Hundertfache oder auch Mehrhundertfache der ursprünglich entwicklungshemmenden Dosis festmachen: diese Stämme sind gegen die abtötende Wirkung des Malachitgrüns gerade so empfindlich, wie der Ausgangsstamm. Sie werden sogar, so paradox das klingt, abgetötet durch Konzentrationen, die weit geringer sind als die, welche die Entwicklung hemmen. Man muß nur die Versuchsbedingungen so gestalten, daß eine Vermehrung ausgeschlossen ist, also sehr niedrige Temperatur oder destilliertes Wasser benutzen.

Eine Abtötungsfestigkeit gegen Malachitgrün zu erreichen, ist bisher nicht sicher gelungen, auch nicht etwa durch Auslese der Ueberlebenden.

Auch die Entwicklungsfestigkeit tritt nur dann ein, wenn die Bakterien sich, während sie mit dem Gift in Berührung sind, vermehren, niemals an ruhenden Bakterien. Macht man einen Desinfektionsversuch in Bouillon bei höherer Temperatur mit einer Malachitgrünkonzentration, die nicht ganz zur Abtötung hinreicht, so erhält man eine Kurve der Ueberlebenden, die zunächst nahezu bis auf Null heruntergeht und dann wieder rasch ansteigt. Entnimmt man eine Probe, während die Kurve noch im Sinken ist, so sind die Bakterien in bezug auf ihre Festigkeit unverändert; entnimmt man aber die Probe, wenn die Kurve wieder im Ansteigen begriffen ist. so erhält man einen Stamm von merklicher Entwicklungsfestigkeit, während die Abtötungsfestigkeit nicht verändert ist. Wahrscheinlich handelt es sich hier, wie auch Beobachtungen auf anderen Gebieten lehren, um ein allgemeines Gesetz, das etwa so lauten würde: Erbliche Veränderungen an einem Bakterium treten nicht auf an der ruhenden Bakterienzelle, sondern nur dann, wenn das verändernde Agens während der Vermehrung auf das Bakterium wirkt.

Pfeiler (Jena): Herr Geheimrat Neufeld hat in seinen Ausführungen besonders die Quantität der Seuchenerreger für die Gestaltung des epidemiologischen Faktors verantwortlich gemacht. Die Tierheilkunde liefert vielleicht besser als die Menschenheilkunde eine ganze Reihe von Beispielen für die Richtigkeit einer solchen Auffassung, wenn auch nicht verkannt werden soll, daß andere Faktoren wie der der Virulenz, des individuellen Faktors, der natürlichen oder erworbenen Immunität den Charakter der Epidemien wesentlich beeinflussen können.

Die Bedeutung quantitativer Verhältnisse läßt sich in dieser Beziehung am besten dartun, wenn man die Verhältnisse zwischen Infektion und Immunität bei einzelnen Krankheiten zugrunde legt. Bei der Schweinepest habe ich vor Jahren in Versuchen, die sich an die bekannten, von Uhlenhuth aber anders gedeuteten, zur Immunisierung gegen diese Krankheit anlehnten, dargetan, daß im Seuchenstalle, wo durch dauernden Aufenthalt von frisch infizierten Ferkeln das Kontagium in größten Mengen ausgestreut wurde, die Wirkung des Serums vollkommen ausblieb. Dagegen zeigte sich die Wirkung des Serums deutlich, wenn in einen infizierten Stall immunisierte Tiere gesetzt, die kranken dagegen nach kurzer Zeit entfernt wurden. Berücksichtigt muß dabei werden, daß das Serum gegen die Schweinepest, das mit Hilfe von natürlichem Virus mangels einer geeigneten Kultur des Erregers hergestellt wird, bei seiner damaligen Art der Herstellung nur einen mittleren Schutzwert hat. Die von Herrn Neufeld betonten Verhältnisse der Reinlichkeit spielen außerdem im Viehstalle in einer noch viel ausgesprocheneren Weise mit als in der Human-Hygiene. Das Futter wird ja vielfach von der Oberfläche der mit Fäkalstoffen usw. und Krankheitserregern imprägnierten Stallstreu oder dem Boden aufgenommen.

Aus meinen Beobachtungen bei Schweinepest hat man jetzt endlich den praktisch richtigen Schluß gezogen, daß man bei dem nur relativen Schutzwert des Serums alle kranken bzw. fiebernden Tiere abschlachtet und nur die übrigen Tiere des Bestandes schutzimpft. Die Morbiditäts- und Mortalitätsziffer soll sich seit dieser Zeit sehr gebessert haben. Die gleichen Beobachtungen kann man beim

Ferkeltyphus, einer sonst in jeder Beziehung mit dem Menschentyphus vergleichbaren Jugenderkrankung der Schweine, machen. Der Milzbrand ist früher über ganze Dörfer, Städte und Länder hingegangen und hat Menschen und Vieh hinweggerafft. Die massenhaften Infektionen wirken heute nicht mehr ein. Daher tritt er nicht mehr gehäuft auf. Herr Geheimrat Abel hat unlängst in Jena in einer Sitzung der Medizinischen Gesellschaft eine sehr interessante statistische Darstellung darüber gegeben, wie sich die Typhus-Erkrankungsziffern bei Frauen und Männern unter dem Einfluß der Kriegsimpfungen verschoben haben. Diese Zahlen sprechen genau im gleichen Sinne wie meine Beobachtungen beim Ferkeltyphus und der Schweinepest. Das Gleiche lehren die Kriegserfahrungen beim Rotz. Als einmal frischer, offener Rotz in unserer Armee erst durch Einschleppungen russischer Pferde häufiger wurde, breitete sich die Krankheit stark aus. Beim Schweinerotlauf, der ein ausgezeichnetes Beispiel für die Tatsache einer zeitlichen und regionären Disposition abgibt, sehen wir dasselbe. Der Erreger ist ein Saprophyt. Hesse hat in einer vor Jahresfrist unter meiner Leitung angefertigten Dissertation nachgewiesen, daß sein Vorkommen an eine bestimmte Alkaleszenz des Bodens gebunden ist, die er z. B. durch Imprägnation mit Blut erhalten kann. Im Sommer erkranken bei feuchter Wärme in Gegenden, wo die Verhältnisse für die Entwicklung des Saprophyten günstig sind, zahlreiche Schweine an Rotlauf, wenn nicht schutzgeimpft wird. Dabei wirken sich dann noch besondere, im Schweineorganismus selber liegende dispositionelle Momente mit aus. Herr Neufeld hat weiter auf die Verhältnisse bei kleinen Kindern hingewiesen. Auch hierfür bietet die Tierheilkunde ein ausgezeichnetes Analogon. Die sog. Schweineseuche ist letzten Endes nichts anderes als eine solche Kinderkrankheit; die ungünstigen hygienischen bzw. Haltungsverhältnisse in bestimmten Stallungen lassen die Tiere an Darmkatarrhen bzw. Lungenerkrankungen dahinsiechen. Der Einfluß des Milieus wird treffend dadurch gekennzeichnet, daß man die Krankheit Zementkrankheit, derartige ungeeignete Ställe Ferkelsärge genannt hat.

Das enge Zusammenleben der Haustiere im Stalle bedingt gerade in quantitativer Beziehung die Gefährlichkeit bestimmter Seuchen. Besonders gut läßt sich dies in Schafherden beobachten, wenn Diplo-, Streptokokken, Lungenentzündungen oder septische Erkrankungen auftreten, desgleichen bei der sog. Pasteurellose der Schafe oder der Lämmer. Aehnliche Beobachtungen kann man bei anderen Jungtierkrankheiten machen, so der Lähme, Ruhr und der sog. ansteckenden Lungenbrustfellentzündung.

Der Auffassung von Herrn Neufeld bezüglich der relativen Labilität möchte ich entgegentreten. Wenn ich ihn recht verstanden habe, hat er gesagt, daß neben den Mäusetyphusbazillen auch andere aus der ganzen Gruppe (Paratyphus) verhältnismäßig labil seien. Das kann nach den Verhältnissen in der Tierheilkunde nicht anerkannt, sondern nur auf gewisse menschenpathogene Vertreter der Paratyphusgruppe bezogen werden. Die Hühnertyphus-, Stutenabortus-, Ferkeltyphus-, Suipestiferbazillen stellen z. B. genau übereinstimmende oder doch nur in ganz geringen Einzelheiten innerhalb ein und desselben Typus voneinander abweichende Repräsentanten dar, die man als Spezies bezeichnen muß.

Aus all diesen Einzelmitteilungen ersehen Sie, wie bedeutungsvoll eine verständnisvolle Zusammenarbeit von Menschen- und Tierheilkunde ist. Gerade die Fragen der vergleichenden Pathologie und Seuchenlehre müßten viel mehr in den Vordergrund gerückt werden.

Zu den Ausführungen des Herrn Morgenroth über die Vererbung der Giftfestigkeit gewisser Trypanosomen-Stämme möchte ich mit Rücksicht auf die vorgeschrittene Zeit nur das eine bemerken: Die Lösung der Frage scheint mir davon abzuhängen, daß nur mit Stämmen gearbeitet werden dürfte, die aus Einzell-Vermehrungen hervorgegangen sind. Erst dann werden sich die Einflüsse des Mendelns, die auch in der Frage der Variabilität eine große Rolle spielen dürften, klarer erkennen lassen.

Kraus (Wien) weist auf die Bedeutung der vergleichenden Epidemiologie hin und bespricht an Beispielen die Variabilität der Mikroorganismen und der Seuchen unter Einfluß verschiedener Klimaten, Rassen, Konstitution usw.

Lentz (Berlin) weist darauf hin, wie notwendig es ist, bei der experimentellen Forschung mehr, als es bisher geschehen ist, die Auswirkung auf die Verhält-

nisse der Praxis in Betracht zu ziehen, wie dies Robert Koch stets getan hat. Denn die praktischen Verhältnisse sind stärker als Forderungen, die wir lediglich auf Laboratoriumsexperimente gründen. So zwingt uns die große Zahl der nach und nach festgestellten Diphtherie- und Typhusbazillenträger unter den Kindern, solche Bazillenträger zur Schule zuzulassen. Er bittet deshalb, in möglichst großem Umfang Erfahrungen über die Virulenz der von Bazillenträgern ausgeschiedenen Krankheitskeime durch Beobachtung und Experiment zu sammeln.

Mießner (Hannover): Wir hatten im Weltkriege Gelegenheit, interessante Beobachtungen an einem großen Tiermaterial zu machen. Während der Rotz unter russischen und polnischen Panjepferden meist in chronischer Form auftrat, wurde er ganz akut, sobald durch derartig chronisch kranke Pferde unsere heimischen Pferde infiziert wurden. Infolge Passage durch die heimischen Pferde erwarb das Rotzbakterium eine solche Virulenz, daß die durch einheimische Pferde infizierten Panjepferde an akutem Rotz erkrankten.

Der schwere Maul- und Klauenseuchegang im Jahre 1921 ist nur durch die höhere Virulenz des Maul- und Klauenseucheerregers zu erklären. Die Verbreitung des Rotlaufs und der Geflügelcholera erfolgt meines Erachtens nicht dadurch, daß plötzlich in der Natur saprophytisch lebende Keime wieder virulent werden, sondern ist auf Bakterienträger zurückzuführen. Bei der weiten Verbreitung des Rotlaufs sind stets Bakterienträger unter den Schweinen anzutreffen. Die Geflügelcholera bricht gewöhnlich im Anschluß an Ankauf neuen Geflügels, unter dem sich Bakterienträger befinden, aus. Auch die Entstehung des Pararauschbrandes (malignen Oedems) ist meiner Ansicht nach nicht darauf zurückzuführen, daß aus metatrophen plötzlich paratrophe Mikroorganismen werden, sondern die ubiquitären Pararauschbrandbazillen (Oedembazillen) sitzen besonders in der behaarten Haut der Tiere. Nach Verletzungen, Operationen, Injektionen, werden sie bei nicht genügender Beachtung der Regeln der Sepsis und Antisepsis in die Unterhaut gebracht und finden dort den geeigneten Nährboden, sich zu vermehren und ihre pathogene Wirkung auszuüben.

Die freilebenden Tiere sind sehr sauber; ich erinnere besonders an die große Sorgfalt, welche die Tiere auf die Reinigung und Reinhaltung des frischgeborenen Jungen verwenden, und wie sich die Tiere selbst, teils auch gegenseitig durch Belecken und Nagen von Unreinigkeiten, auch von Parasiten, zu befreien suchen. Selbst bei den domestizierten Tieren hat sich die Reinlichkeit, soweit möglich und nicht behindert durch Anbinden und schlechte Stallungen, noch erhalten. Sind Tiere mit Ungeziefer und Schmutz behaftet, so wird das stets als ein Zeichen von Erkrankung angesehen.

Kolle (Frankfurt a. M.): Was zunächst die Entstehung oder das erste Auftreten der Cholera betrifft, so hat Robert Koch stets darauf hingewiesen, daß wir keinerlei Beweise besitzen für eine Existenz der Cholera, sei es in Indien, sei es außerhalb dieses Landes, vor dem Jahre 1805. Eine Krankheit, die so leicht sich mit dem menschlichen Verkehr über die ganze Erde ausbreitet und die so typisch in ihren Erscheinungen ist, müßte auch vor dem Jahre 1805 in Seuchenzügen über die Erde, mindestens über Afrika und Europa aufgetreten sein, wenn sie existiert hätte. Um die 18. Jahrhundertwende muß also zum erstenmal der Choleravibrio in dieser virulenten Form, die zur Entstehung von Seuchen führte, aufgetreten sein. Das spricht doch sehr dafür, daß auch die Pathogenität bzw. Virulenz in den Kreis der variablen Faktoren gehört und unter Umständen zur Entstehung von neuen Seuchen führen kann. Ein ähnliches Auftreten einer neuen, sehr virulenten Dauermodifikation des Grippe-Erregers dürfte auch bei der großen Grippeepidemie von 1918 und 1919 vorhanden gewesen sein. Denn niemals vorher hat die Grippe eine derartige Sterblichkeit aufgewiesen, wie bei dieser Epidemie.

Es hat mich in Erstaunen gesetzt, daß die Umzüchtung des Paratyphus-Bazillus in einen Typhusbazillus als eine sichere Tatsache hier mitgeteilt ist. Es bedeutet das die Ueberführung einer spezifischen Mikroorganismenart in eine andere. Dafür haben wir aber bisher keinerlei exakte Beweise. Herr Gotschlich hätte vielmehr für die Variabilität die Untersuchungen zitieren sollen, die ich mit Schloßberger und Pfannenstiel bei der Gewinnung von virulenten Dauermodifikationen der säurefesten sog. saprophytischen Bakterien mittels Tierpassagen erzielt habe. Dies ist nicht zu vergleichen mit der Ueberführung einer Art in die andere. Denn es ist weder von uns behauptet worden, noch experimentell bewiesen, daß die so erhaltenen tierpathogenen Dauer-

modifikationen der saprophytischen Bakterien identisch wären mit den echten Tuberkelbazillen. Es handelt sich nur um eine Zunahme der Virulenz mit veränderter Wachstumsform. Wir haben im Gegenteil darauf hingewiesen, daß die menschliche und die Tiertuberkulose durch die betreffenden, seit Jahrhunderten oder Jahrtausenden an den Organismus angepaßten menschen- und tierpathogenen Dauermodifikationen des Tuberkelbazillus, d. h. den Typus humanus und bovinus, hervorgerufen werden.

Gotschlich: Zu den interessanten Ausführungen des Herrn Neufeld über die Beziehungen zwischen Variabilität und Epidemiologie möchte ich noch einiges z. B. betr. der Cholera, anführen, weil wir gerade bei dieser Seuche nach den epidemiologischen Erfahrungen, die nur ein Jahrhundert zurückliegen, gar nicht um die Annahme herumkommen, daß sich um die Zeit ihres ersten Seuchenzuges über die Erde in dem biologischen Verhalten des Erregers eine Wandlung vollzogen haben muß, die erst diese gewaltige pandemische Verbreitung ermöglicht hat. Man bedenke, daß zur Zeit der erstmaligen Ausbreitung der Cholera (1817—1829) weder in den hygienischen Verhältnissen der betroffenen Gebiete noch in den Uebertragungsmöglichkeiten der Infektion irgendwelche Aenderung eingetreten ist, die einen solchen Wandel in der Seuchengeschichte zureichend erklären könnte, wie wenn etwa die pandemische Verbreitung der Cholera z. B. mit der Beschleunigung des Verkehrs durch das Dampfschiff oder durch den Ausbau des innerasiatischen Eisenbahnnetzes zusammengefallen wäre, die doch erst viel später datieren; insbesondere haben die alljährlichen Pilgerzüge nach Arabien, in deren Verlauf in den acht Jahrzehnten von 1831—1912 die Cholera nicht weniger als 31mal in Arabien aufgetreten ist, schon viele Jahrhunderte vorher stattgefunden, ohne daß je zuvor die Cholera in ihrem Gefolge aufgetreten wäre. Die Cholera ist also nachweislich eine in neuerer Zeit erst entstandene Seuche. Andererseits verfügen wir auch über bestimmte Tatsachen, die im Sinne einer biologischen Veränderung des Choleravibrios im Zusammenhang mit dem spontanen Aufhören der Seuche sprechen; ich meine die von meinem verstorbenen Bruder F. Gotschlich entdeckten spezifischen El-Tor-Vibrionen, mit deren Auffassung als einer Variante des Choleravibrios ich mit Herrn R. Kraus gern übereinstimme. — Was die seit dem Jahre 1894 andauernde neue Periode der Seuchenzüge der Pest anlangt, so könnte ich mir hier viel eher eine Erklärung durch die veränderten Bedingungen der Uebertragung machen, seitdem im Jahre 1896 ein Hafenplatz von der Bedeutung von Bombay infiziert wurde und von da aus die Möglichkeit der Verschleppung nach allen Seiten gegeben war. Allerdings ist für die in verschiedenen Epidemien sehr verschieden ausgeprägte Tendenz der Seuche, aus der ursprünglichen Beulenpest in Lungenpest überzugehen, neben äußeren begünstigenden Momenten zweifellos auch ein Variieren des Erregers heranzuziehen, für das mir aus eigener Beobachtung in Alexandrien gleichfalls direkte Erfahrungstatsachen zur Verfügung stehen. — In noch anderen Fällen sind freilich Verschiedenheiten in der örtlichen und zeitlichen Erscheinungsweise einer Infektion nicht auf biologische Abänderungen des Erregers, sondern auf die verschiedenen äußeren Bedingungen zurückzuführen, wie z. B. die von Herrn Kraus angeführte Seltenheit der progressiven Paralyse bei Naturvölkern, die sich wohl einfach dadurch erklärt, daß bei diesen Völkern die als unerwünschte Begleiterscheinung der Kulturentwicklung zustande kommende Ueberlastung des Gehirns fehlt, durch die erst die Prädisposition für diese Form der luetischen Erkrankung geschaffen wird. — Endlich kennen wir Infektionskrankheiten, deren Erreger offenbar so gefestigt und so wenig dem Variieren unterworfen sind, daß sie in ihrem charakteristischen Bilde schon seit vielen Jahrhunderten bestehen; wir sind hier nicht mehr allein auf historische Berichte angewiesen, sondern verfügen durch die hochinteressanten paläopathologischen Forschungen von M. A. Ruffer u. a. über direkte Beweisstücke, z. B. über den Nachweis von Tuberkulose und Variola bei ägyptischen Mumien. — Alle diese epidemiologischen Tatsachen beweisen, im Zusammenhang mit den gestern besprochenen biologischen Forschungen, daß die Variabilität bei verschiedenen Mikroorganismen in sehr ungleichem Grade ausgebildet ist. Auch unser gestriges Ergebnis, daß wir für das Variieren vielfach gewisse präformierte Gleichgewichtszustände annehmen müssen, findet durch die bemerkenswerten Mitteilungen von Herrn Morgenroth über experimentell erzeugbare und bis zu einem gewissen Grade vorher bestimmbare Varianten eine neue Bestätigung.

Czaplewski (Köln): Ein jeder, der sich mit Krankheitserregern und Epidemiologie beschäftigt, muß zu allen diesen Fragen seine persönliche Stellung

nehmen, abhängig von seinen besonderen Gesichtspunkten. So wird es mir auch Herr Neufeld nicht verübeln, wenn ich ihm nicht in allem bezüglich seiner Ausführungen zu folgen vermag. Aus der Betrachtung der Epidemien wissen wir, daß nur auf der Höhe der Epidemie die typischen vollentwickelten Krankheitsfälle in reinster Form zu beobachten sind, daß aber am Anfang und am Schluß der Epidemie daneben abortive und vielfach ganz unklare, zum Teil larvierte Fälle auftreten, deren Zugehörigkeit aufzudecken mitunter nur sehr schwierig mit allen Mitteln verfeinerter Diagnostik möglich wird. Parallelgehend, pflegen auch die Krankheitserreger nur auf der Höhe der Epidemie in typischer Form und in typischen Kulturen nachweisbar zu sein, während am Anfang und Ende der Epidemie oft die bemerkenswertesten Abweichungen auftreten. Aus diesen Beobachtungen heraus hat man sich also sozusagen einen Idealtypus oder Normaltypus des Krankheitsbildes und ebenso des Krankheitserregers, seiner Wuchsformen und Kulturen abgeleitet. Der Epidemiologe und Mikrobiologe muß aber daneben auch die Abweichungen nach allen Richtungen genau kennen zu lernen und festzustellen suchen, um vor bösen Ueberraschungen bewahrt zu bleiben. Was die Krankheitserreger anlangt, so hat man neben den Vollformen mit normaler Virulenz in manchen Fällen bekanntlich auch solche mit übermäßig gesteigerter Virulenz mit abnorm kurzem letalen Krankheitsverlauf und Neigung zu hämorrhagischen Formen. Verbunden scheinen mir diese mit Neigung zu frühzeitigem Eintritt des Status septicaemicus mit frühzeitiger Ueberschwemmung des Blutes mit den Erregern, die für gewöhnlich vielleicht nur spät und spärlich oder gar nicht ins Blut überzugehen pflegen. Solche akuteste hämorrhagische Krankheitsformen finden sich ja z. B. bei der Gruppe der Septicaemia haemorrhagica, bei Pestkapselbazillen- und Streptokokkeninfektionen usw. Eine Steigerung des Charakters der Infektion findet dabei also offenbar statt, wenn das Uebertreten der Krankheitskeime ins Blut und die Ueberschwemmung desselben mit dem Erreger früher einsetzt. Charakteristisch scheint mir das Beispiel der Streptokokken, die oft spät, mitunter aber nach kleinstem Stich sofort, ins Blut übergehend, Sepsis verursachen. Verschiedenartigkeit in der Art und Weise der Uebertragung des Krankheitserregers verändert naturgemäß auch den ganzen Charakter der Epidemie, wofür es unzählige Beispiele gibt, so bei der Pest (Uebertragung durch Rattenflöhe, Rattenpest, Kontaktinfektion und Inhalation, Lungenpest).

Herr Neufeld hat mit Recht die Bedeutung der Unsauberkeit betont und Herr Pfeiler in der Diskussion ihre Wichtigkeit für die Ausbreitung der Tierseuchen unterstrichen. Dasselbe gilt ja ebenso für die menschlichen Infektionskrankheiten, die in engen schmutzigen Wohnungen, in denen eine verschmutzte unterernährte Bevölkerung zusammenwohnt, die größte und schnellste Ausbreitung finden, für Tuberkulose, Flecktyphus, Pocken, Pest, Cholera, Typhus, Ruhr, namentlich für die Krankheiten der Atmungsorgane mit ihrer Tröpfcheninfektion, usw. Besonders gefährlich ist die Streuung bei der intimen Kontaktbreite, z. B. auch bei der Tuberkulose.

Mit einer gewissen Verwunderung habe ich gesehen, daß Herr Neufeld auch die Cholera zu den konstanten Formen rechnet. Als ich 1893 bei Dunbar in Hamburg die Cholerauntersuchungen über die zweite Choleraepidemie mitmachte, fiel mir die weitgehende Verschiedenheit der von den einzelnen Fällen gewonnenen Cholerastämme auf. Dieselbe war namentlich in den Gelatinekulturen mit ihrer Verflüssigung sehr sinnfällig, tritt natürlich in den jetzt mehr benutzten Agar- und Dieudonnékulturen und auf anderen neueren Nährböden viel weniger markant hervor.

Bezüglich der Vaccine meinte Herr Neufeld, wenn ich ihn richtig verstand, daß es nicht möglich sei, die Vaccine von Mensch zu Mensch und von Kalb zu Kalb dauernd fortzuzüchten.

Das ist meines Wissens nicht zutreffend. Denn, soviel mir bekannt, wird der Original-Jennerstamm im Findelhause in Wien ununterbrochen von Kind zu Kind fortgezüchtet (Paul), wenigstens habe ich den Stamm noch ca. 1899 aus Wien erhalten. (Zustimmung von den Herren aus Wien.) Was nun die Fortzüchtung von Kalb zu Kalb anlangt, so weiß ich wohl, daß in einzelnen Impfanstalten mitunter eine Abschwächung eintritt oder daß die Stämme abreißen, schiebe dies aber auf Zufälligkeiten oder andere vermeidbare Ursachen. (Die Termine sind oft unregelmäßig, die Tiere mitunter krank, das Eis ausgegangen; mit den Mischungsverhältnissen für die Lymphe wurde viel experimentiert usw.) In solchen Fällen wurde eben ein anderer Stamm, z. B. aus einer anderen Impfanstalt, bezogen oder eine neue Menschenpassage eingeschoben. In Köln ist Prof. Meder bekanntlich auch die Erzeugung einer neuen Variola vaccine geglückt, welche

keinerlei Abschwächung zeigt, vielmehr besonders kräftige Reaktionen macht, so daß nur richtig abgelagerte verwendet wird. (Inzwischen ist aber, wie ich höre, dieser Stamm wieder verlassen und durch Retrovakzine ersetzt.)

Herr Weleminsky sprach gestern davon, daß die untergärige Hefe rein vegetativ weiter gezüchtet wird. Das ist jedoch nicht ganz zutreffend. Nach beendeter Gärung wird vielmehr die am Boden abgesetzte Hefe sorgfältig mit Wasser ausgewaschen und dadurch zu ruhender Hefe, dann erst nach der Ruhe als Anstellhefe neu verwandt (sofern nicht frische Anstellhefe, z. B. Reinkulturhefe, eingeführt wird). Aehnlich ist es bei der Preßhefefabrikation. Hier reißt mitunter der Stamm ab, aber nicht, weil er degeneriert erschöpft ist, sondern weil er durch wilde Hefen, z. B. Fleckhefe, verunreinigt ist und überwuchert wird. Hier ist also die schädliche Ursache, welche den richtigen Kulturverlauf stört, die Mischinfektion.

(Die Mischinfektion, auf die ich bereits 1889/90 hingewiesen habe, spielt aber auch sonst für den Krankheitsverlauf und das epidemiologische Verhalten eine gewaltige Rolle, so auch für die Tuberkulose. Durch Mischinfektion, z. B. mit I.-B., wird die Tuberkulose bekanntlich sehr verschlimmert. Durch eine Heilung der viel leichter angreifbaren Mischinfektion wird also die Tuberkulose naturgemäß günstig beeinflußt. Hier ist meines Erachtens ein sehr aussichtsreicher, noch nicht systematisch ausgebauter Weg zur Bekämpfung der Tuberkulose.)

Der Auffassung von Herrn Neufeld, daß die Influenza eine bei uns autochthone Krankheit sei, vermag ich nicht beizupflichten und ist mir die Flexnersche Annahme einer Einschleppung z. B. aus Turkestan viel sympathischer. Nachdem die Influenza in Köln ca. 1900 wieder aufgetreten, fand ich auf Diphtherieplatten mit Klatschpräparaten mehrfach I.-B. Herr Auerbach hat bei mir dies Vorkommen dann systematisch verfolgt (Zeitschr. f. Hyg. 1904), später hörten dann die I.-B.-Befunde ganz auf. Die neue Epidemie 1918 zeigte insofern ein Besonderes, als sehr zahlreiche Streptokokken im Auswurf auftraten, mit hoher Mortalität der Fälle, so daß ich den Eindruck gewann, daß es sich um eine Lungen-Streptokokkeninfektion (zusammen mit I.-B.) mit Uebertragung durch Tröpfcheninfektion, wie bei manchen Fällen von Papageienkrankheit entsprechend der Form der Lungenpest, handelte.

(Was die Di-B.-Träger ohne Folgen anlangt, so möchte ich bemerken, daß dieselben zuerst von Franz Schrammen in meinem Institut bei systematischen Schuluntersuchungen (ohne Diphtheriefälle) festgestellt wurden[1]). Die Verwaltung stellte sich mit uns auf einen abwartenden Standpunkt, ohne davon üble Folgen zu sehen. Erst danach kamen in der Folge die Bestätigungen von Berlin-Charlottenburg.)

Herr Neufeld hat die Wichtigkeit der Stauung bei Entstehung der Pusteln hervorgehoben. Ich möchte dabei die hohe Bedeutung von Blutungen und Gewebszertrümmerung betonen, in denen sich die Mikroben ungestört, vor dem Untergang geschützt und auf bestem nativen blutigen Nährboden vermehren und ihre toxischen Eigenschaften entwickeln können. Auch hier spielt die Mischinfektion eine große Rolle, wobei sich zum Teil anaërobe Bedingungen entwickeln.

Was die Reinlichkeit der wilden Tiere anlangt, so meine ich, daß auch wilde Tiere meist an sich durchaus reinlich und sauber sind. Sie erziehen sogar ihre Jungen dazu. Kranke Tiere dagegen versäumen die Reinlichkeit und verschmutzen.

(Auch Naturvölker pflegen die Reinlichkeit in ihrer Weise und haben ihre Hygiene, betreiben Fußpflege, baden fleißig usw. Neger haben ihre Zahnbürsten aus weichem Holz und benutzen sie fleißig. Sie haben freilich keine Seife, die auch den Völkern des Altertums unbekannt war. Man sagt, der Verbrauch an Seife sei ein Maßstab für die Kultur eines Volkes, aber auch Seife kann bekanntlich schädlich sein, wenn sie nicht überfettet oder wenigstens neutral ist oder schädliche Zusatzstoffe, z. B. Wasserglas, enthält, Hautkatarrhe erzeugen und die Ansiedlung der Mikroben sogar begünstigen.)

Herr Neufeld meinte von den Streptokokken und Pneumokokken, daß sie als Katarrherreger ihre Virulenz steigern. Umgekehrt bin ich aber auch der Ansicht, daß sie sich in z. B. durch chemische Reizung, Abführmittel usw., erzeugten

---

1) Franz Schrammen, Ueber Diphtheriebazillenträger in einem Kölner Schulbezirk. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 67. 1913. H. 6. S. 423—431. — Derselbe, Weitere Untersuchungen über Diphtheriebazillenträger in einem Kölner Schulbezirk. Z. f. Med.-Beamte. 1913. Nr. 13. — Derselbe, Erwiderung auf den Artikel in Nr. 16 dieser Zeitschrift: Die Gefahr der Bazillenträger von Dr. Erich Seligmann, Z. f. Med.-Beamte. 1913. Heft 18.

Katarrhen in dem dünnen, wäßrigen katarrhalischen Sekret viel besser zu vermehren vermögen, während zunehmende Konzentration bekanntlich ihre Entwicklung und sie selbst schädigt, ein Moment, das man also auch therapeutisch ausnutzen kann.

Zu den Ausführungen von Herrn Morgenroth über chininfeste Tropicastämme möchte ich anführen, daß diese Chininfestigkeit durch die Annahme widerstandsfähiger Dauerformen, welche gegen Chinin unempfindlicher sind, doch ausreichend erklärt wird (cf. die größere Resistenz der Amöbenzysten). Und was die von ihm angeführte größere Resistenz der Gehirnspirochäten anlangt, so könnten vielleicht auch hier ähnliche Verhältnisse vorliegen. Auch für die Spirochäten werden ja von verschiedenen Seiten Dauerformen, sporenähnliche Gebilde, angenommen. Solche rundlich-eiförmige Gebilde habe ich auch in Gehirnschnitten von Paralyse verschiedentlich, und zwar zum Teil in direktem Zusammenhang mit Spirochäten, gesehen und eines auch photographieren können.

(Zu den Beobachtungen des Herrn Morgenroth, welche er als Chemoflexion bezeichnet, vermag ich einen Erklärungsversuch beizusteuern. Ich greife dabei zurück auf die alten Beobachtungen von Pfeffer u. a. über Chemotaxis, daß die Wiederholung eines Reizes bedeutend schwächere Wirkung infolge einer gewissen Ermüdung des gereizten Subjekts erzeugt.)

(Die 4 Referate über die Variabilität haben uns offenbar einen gewaltigen Schritt vorwärts gebracht. Sie haben uns aber auch gezeigt, wieviel uns noch zu tun übrig bleibt und daß wir bei vielen Fragen am ersten Anfang stehen. Wenn Herr Jollos den Bakterien usw. die Genen vorläufig absprach, so meine ich doch, daß auch hier bereits viel mehr positive Facta vorliegen, als hier angeführt wurde. Außer Schaudinn haben auch z. B. Guilliermond u. a. sehr bemerkenswerte Beiträge geliefert. Auf der Tagung von Jena habe ich, als Herr Přibram Geißeln bei Vertretern der Septicaemia haemorrhagica demonstrierte, betont, daß wir allen Grund hätten, aufzuklären, welche Bedeutung den Geißelformen zukäme, ob etwa der Bedeutung von Geschlechtsformen. Ich wies darauf hin, daß bei Hefen bereits unbestritten Geschlechtsformen bekannt seien (Zygosaccharomyces). Wir müssen in der Folge jedenfalls die Frage, ob auch bei Bakterien Geschlechtsformen und geschlechtliche Vermehrung vorkommen, endgültig zu lösen versuchen. Einen Beitrag dazu scheinen mir bereits die von Herrn Philaethes Kuhn demonstrierten Formen zu liefern. Ueberhaupt werden wir die Kenntnisse von Bau und Leben der Bakterien- und Mikrobenzelle auch zu erweitern und vertiefen suchen müssen[1]). Und der Lehre von der gesunden Mikrobenzelle müssen wir die Lehre von der kranken Mikrobenzelle hinzufügen. Wir müssen daher einer Uni-Zellular-Biologie eine Uni-Zellular-Pathologie gegenüberstellen.)

Uhlenhuth (Freiburg i. B.): Zum Virulenzproblem möchte ich mir einige Bemerkungen erlauben. Man kann experimentell Seuchen erzeugen.

Ich[2]) habe mit Haendel und Steffenhagen Ratten mit Sarkom ip. geimpft. Die Tiere erkrankten infolge des Eingriffs vielfach an einer Gaertner-Infektion. Die normalerweise im Darm vorhandenen Gaertner-Bazillen wurden virulent. Setzte man gesunde Tiere dazu, so erkrankten sie, indem sie sich an diesen Tieren ansteckten. Es war also infolge der Tumorimpfung eine Seuche unter den Ratten entstanden.

Dasselbe kann man bei Mäusen durch Fleischfütterung erzeugen (Zwick und Weichel).

Es handelt sich also um ein künstlich erzeugtes Virulentwerden von im Darm normalerweise lebenden Paratyphusbakterien, die sonst ein saprophytisches Dasein fristen.

Bei der puerperalen Sepsis sehen wir, daß normalerweise in der Scheide vorhandene Streptokokken unter Umständen, die wir nicht näher kennen, virulent werden und diese Krankheit erzeugen können. Wäre die Sepsis ansteckend, so hätten wir auch hier eine spontan entstandene Seuche.

Bei der Dysenterie haben wir im Felde ein plötzliches Ausbrechen der Krankheit zu gleicher Zeit an der ganzen Westfront gesehen. Man kann sich das gar nicht anders vorstellen, als daß hier normalerweise im Darm vorhandene

---

1) Einen schönen Anfang bedeuten hierbei die Untersuchungen von Franz Král und des Lindnerschen Schülers Dr. Henneberg über die Zustände der Hefe bei dem Ablauf der Gärung.

2) Exp. Untersuchungen über Rattensarkom. Arb. aus d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 36. 1911. S. 4.

Ruhrbazillen durch irgendwelchen Einfluß (Sommerhitze, Ernährung usw.) plötzlich virulent geworden sind.

Bei den aus den Hähnen der Berliner Wasserleitung gezüchteten Spirochäten (Uhlenhuth-Zülzer), die morphologisch der Spirochaeta icterogenes vollkommen gleichen, ist es uns durch fortgesetzte Passagen in Kaninchenserum-Wasser in einem Falle gelungen, diese Wasserspirochäte auch in ihren antigenen (Agglutinations-) und pathogenen Eigenschaften so zu verändern, daß sie immunisatorisch der echten Weil-Spirochäte vollkommen glich und auch Gelbsucht hervorrief (Zülzer).

Ob das nicht auch in der Natur vorkommt? Manche Fälle — Badeepidemien, Sturz in eine Kloake usw. — wonach die Weilsche Krankheit auftrat, sprechen dafür. Man muß aber bei der Beurteilung aller dieser Beobachtungen sehr vorsichtig sein.

An dieser historischen Stätte (Anatomie in Göttingen), wo Jakob Henle, der Vorkämpfer des Spezifitätsbegriffes, lehrte und forschte, sollte diese Mahnung besonders beherzigt werden.

Ich freue mich, daß Herr Pfeiler mit unserem Schweinepestserum gute Erfolge erzielt hat. Ich möchte aber ausdrücklich bemerken, daß das Serum nach unseren Feststellungen auch schützt in einem Seuchenstall, in dem dauernd schwerkranke Tiere sitzen.

In der Praxis wird man jedoch zweckmäßig die schwerkranken und hochfiebernden Tiere abschlachten, um die schweren Infektionsquellen zu beseitigen.

M. Knorr (Erlangen): Gestatten Sie mir, auf die Beziehungen hinzuweisen, die zwischen dem Koch-Weeksschen Bindehautkatarrh und dem Influenzaproblem bestehen. Es ist kaum mehr zweifelhaft (Fildes, Schneider, Knorr-Wißmann), daß der Koch-Weekssche Bazillus mit dem Influenzabazillus identisch ist. Nach meinen Untersuchungen muß die beim Koch-Weeksschen Bindehautkatarrh am häufigsten zu findende Stäbchenform als Typ II des Influenzabazillus angesprochen werden. Wir kennen somit eine Erkrankung, bei der die Erregernatur des Influenzabazillus außer allem Zweifel steht. Diese Tatsache erscheint mir um so wichtiger, als wir durch die besser bekannte Epidemiologie des Koch-Weeksschen Bindehautkatarrhs auch die dunklen Punkte in der Epidemiologie der Influenza klären können.

Axenfeld vertrat zwar die Ansicht, daß die Koch-Weekssche Bindehautentzündung niemals gleichen Schritt mit der Ausbreitung epidemischer Influenza gehalten hätte, aber Hübschmann kam vor einigen Jahren in Weichardts Ergebnissen zu der Auffassung, daß beide Erkrankungen in weitem Maße parallel gehen. Ich habe rein geschichtlich feststellen können, daß vor der großen Influenzaepidemie 1889 die Koch-Weekssche Bindehautentzündung bekannt wurde. Weeks allein stellte 1887—89 in New York nicht weniger als 1000 Koch-Weekssche Bindehautkatarrhe fest, und nun beginnt 1889 gerade in New York die riesige Influenzaepidemie! Abgesehen von kleineren parallel laufenden Epidemien fallen ausgerechnet in die Jahre 1917—20 acht Berichte über umfangreiche Koch-Weeks-Epidemien.

Wenn Herr Geheimrat Neufeld die Angabe von Flexner, daß Turkestan die Brutstätte der Influenzaepidemien sei, zitiert hat, so darf nicht unerwähnt bleiben, daß in den südöstlichen Ländern und in Aegypten diese Bindehauterkrankungen epidemisch beobachtet werden (s. a. Gromakowsky, Subow). Wir sehen ferner die von Herrn Geh. Rat Neufeld erwähnte Möglichkeit der Virulenzsteigerung der Influenzabazillen durch Tierpassage auch aus dem Verlauf des Koch-Weeksschen Bindehautkatarrhes. Es werden nämlich alle Alter befallen, aber das Alter zwischen 5—15 wird bevorzugt. Es ist nun bei allen Epidemien zu sehen, daß sie in geschlossenem Kreise (Kinderkrippen usw.) ausbrechen und die erkrankten Erwachsenen von ihren Kindern angesteckt wurden. Also muß anscheinend der Keim durch die Kinderpassage in seiner Virulenz gesteigert werden, um auch beim widerstandsfähigeren Erwachsenen die Erkrankung hervorzurufen. Obwohl die resorbierende Fläche der Bindehaut klein ist, sehen wir dann nicht selten die klinischen Symptome wie bei Influenza.

Virulenzsteigerungsversuche bei Tieren sind deshalb schwierig, weil man immer sofort eine Reinkultur aus dem Herzblut züchten muß, da jede eingeschaltete Kultur die Virulenz wieder herabsetzen kann. Wie Wollstein u. a. gezeigt haben, gelingt die Virulenzsteigerung auch bei Mäusen, aber die Herabsetzung der allgemeinen Widerstandskraft des Körpers durch die Influenzabazillen ist nach einigen Tierpassagen so groß, daß, wie ich es erlebt habe, plötzlich im Herzblut Mäusetyphusbazillen in mehreren Versuchsreihen, auch bei Ratten, auftraten.

Herr Geh. Rat Neufeld hat ferner betont, daß nach seiner Ansicht in allererster Linie die persönliche Prophylaxe bei Influenza in Frage käme. Die Richtigkeit dieser Ansicht können wir durch die Epidemiologie der Koch-Weeksschen Bindehautentzündung beweisen, weil hier dafür sprechende Beobachtungen, ich möchte sagen, mehr zutage liegen. 1820 hat bereits Rust gesehen, daß von dieser Bindehautentzündung nur Mannschaften befallen wurden, Offiziere und Unteroffiziere aber frei blieben, und diese Beobachtung Rusts wurde im letzten Kriege bestätigt (Verzar u. a.). Die Unmöglichkeit der persönlichen Prophylaxe bei den Mannschaften bei Benützung der Reihenwaschbecken, der Handtücher, infolge der engen Belegung der Mannschaftsräume usw. führt zur Ausbreitung dieser Krankheit in einer ganz bestimmten Schicht. Wir sehen also — ich könnte noch in mancher Richtung weitere Tatsachen anführen — wie durch Berücksichtigung der Epidemiologie des Koch-Weeksschen Bindehautkatarrhes das Influenzaproblem befruchtet wird.

Sobernheim (Bern) verweist auf die eigentümlichen epidemiologischen Verhältnisse, die sich hinsichtlich des Pockenverlaufs in der Schweiz ergeben haben. Die Pocken zeigen in den meisten Kantonen, wo sie auftreten, einen so milden Charakter, daß die Zahl der Todesfälle bisher eine verschwindend geringe ist. Eine Erklärung für diese außerordentliche Abschwächung des Virus ist schwer zu geben. Man könnte aber vielleicht daran denken, daß das Virus, das wahrscheinlich aus Deutschland eingeschleppt worden ist, daselbst durch dauernde Fortzüchtung in einer gut immunisierten Bevölkerung allmählich an Wirksamkeit eingebüßt hat. Dem steht entgegen, daß in Basel die Pocken schweren Charakter und ziemlich hohe Letalität zeigten. Vielleicht stammt also das Baseler Virus nicht aus Deutschland. Die ursprüngliche Annahme, daß die Pocken dorthin aus Frankfurt eingeschleppt wurden, ist wieder zweifelhaft geworden.

F. Breinl (Prag): Unterschiede in der Virulenz bei verschiedenen Fleckfieberstämmen konnten bisher nicht gefunden werden. Die in verschiedenen Ländern gewonnenen Stämme erweisen sich als identisch, ebenso die am Beginn, auf der Höhe und während des Abklingens der Epidemie isolierten.

Alle Versuche, das Virus künstlich in seiner Virulenz abzuschwächen, sind bisher ohne Resultat geblieben.

Die Infektionsdosis hat keinen Einfluß auf die Schwere des Fieberverlaufes, sondern nur auf die Inkubationszeit: war die infizierende Dose groß, so ist die Inkubationszeit kurz, je geringer die Dose, desto später tritt das Fieber ein. Der Fieberverlauf selbst ist immer der gleiche. Unterschiede in der Schwere des Krankheitsverlaufes müssen demnach in der Beschaffenheit der infizierten Personen ihre Ursache haben.

Nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse müssen die Proteus-X-Stämme als irreversible Mutanten des Fleckfiebervirus aufgefaßt werden.

Gegenbauer (Wien): Zu den Ausführungen des Herrn Geheimrat Neufeld über die hohe Masernletalität im Flüchtlingslager Gmünd in Niederösterreich (45,54 Proz. bei der ersten Epidemie, 48,23 Proz. bei der zweiten Epidemie, 38,23 Proz. bei der dritten Epidemie, 15,53 Proz. bei der vierten Epidemie) möchte ich erwähnen, daß in diesem Falle ganz außerordentlich ungünstige Verhältnisse (überfüllte Flüchtlingsbaracken, geringes Entgegenkommen der Insassen gegenüber ärztlichen Bestrebungen, herabgekommene unterernährte Kinder) die starke Ausbreitung und hohe Sterblichkeit der Masern verursacht hatten. Die überwiegende Mehrzahl der Todesfälle (75,5 Proz.) waren durch Komplikationen, und zwar namentlich durch Bronchopneumonien (61,68 Proz.) verursacht; eine Feststellung, die einen guten Beleg für die von Herrn Geheimrat Neufeld ausgesprochene Ansicht gibt, daß die hohe Spitalssterblichkeit bei Masern nicht nur durch die Schwere der in Spitalsbehandlung abgegebenen Fälle, sondern auch durch die gegenseitige Ansteckung der Kranken mit verschiedenen anderen durch ausgeschleuderte Tröpfchen übertragbaren Krankheitskeimen bedingt sei. Ich stimme dieser Ansicht vollständig zu. Wir fürchten in letzterer Beziehung in Wien vielleicht noch mehr die Pertussis. Und gerade bei dieser Krankheit ist das Bestreben der Bevölkerung die Kranken in Spitalspflege abzugeben wegen der angeblichen Erstickungsgefahr ein größeres als bei den Masern.

Wegen der leichten Uebertragbarkeit jener Infektionskrankheiten, deren Erreger durch ausgeschleuderte Tröpfchen weiter verbreitet werden können, vermeiden wir in Wien im allgemeinen bei diesen Infektionskrankheiten, sofern sie bei uns einheimisch

sind (wie Scharlach, Masern, Diphtherie, Pertussis usw.), die Quarantänisierung der Ansteckungsverdächtigen, sondern zerstreuen diese in ihre Familien. Nur wenn dies ausnahmsweise nicht möglich ist, nehmen wir eine Quarantänisierung, und zwar dann in möglichst kleinen Gruppen, vor. Bei Fleckfieber, Rückfallfieber, Blattern, Cholera und Pest werden die Ansteckungsverdächtigen stets quarantänisiert.

Neufeld (Schlußwort).

Morgenroth (Schlußwort): Zu den Ausführungen von Herrn Schnitzer und Berger möchte ich bemerken, daß auch — analog den Beobachtungen von Schnitzer und Munter bei Streptokokken — die Pneumokokken im Tierversuch an der Maus in den ersten Stunden nach der Infektion zum Teil in die Modifikationen A und B übergehen. Mit dem schon erwähnten Studium des pneumonischen Sputums unter dem gleichen Gesichtspunkt bin ich gemeinsam mit den Herren Schnitzer und Berger beschäftigt, und ich habe den Eindruck, daß das Auftreten der genannten Modifikationen uns der Lösung des Rätsels der pneumonischen Krisis erheblich näher bringt.

Ich begrüße mit Freude die Stellungnahme des Herrn Kolle zur Chemozeptorentheorie. Auch ich glaube, daß der Koordinationschemie in Zukunft eine Bedeutung bei unseren Betrachtungen zukommen wird.

6. Vortrag. Titze (Berlin-Dahlem):

Experimentelles über die Maul- und Klauenseuche mit besonderer Berücksichtigung der Züchtung des Virus (Autoreferat).

In der Erforschung der Maul- und Klauenseuche lassen sich in den letzten Jahrzehnten zwei Zeiträume unterscheiden. Während der erstere sich an die Namen Löffler, Frosch, Uhlenhuth und Hecker knüpft, geht der letzte im wesentlichen aus von der Feststellung Waldmanns, daß die Maul- und Klauenseuche auf leicht zu verwendende und billige Laboratoriumstiere zu übertragen ist. Mit dieser Möglichkeit wurden im Jahre 1920 die Züchtungsversuche des Erregers erneut aufgenommen. Als erster habe ich nach dem Grundsatz gearbeitet, daß für das Wachstum des Maul- und Klauenseuchevirus vor allem das Vorhandensein von frischen Tierseren notwendig wäre. Wir hatten damals in Gemeinschaft mit Giese und Wedemann gerade über die Aetiologie und die serologische Diagnostik bei der Lungenseuche des Rindes gearbeitet, und die Angaben für die Züchtung des Lungenseucheerregers der bekannten französischen Forscher wurden von mir auf die Maul- und Klauenseuche ausgedehnt, wobei ich allerdings nur mit dem flüssigen Lungenseuchenährboden gearbeitet habe, wie aus meiner Veröffentlichung in der Festschrift für Geheimrat v. Ostertag hervorgeht. (Zeitschr. für Infektionskrankheiten usw. der Haustiere, ausgegeben am 24. März 1924.)

Nunmehr haben Frosch und Dahmen, ebenfalls ausgehend von der Züchtung des Lungenseucherregers, ihre Versuche ausgeführt, aber sie scheinen weitergekommen zu sein, da sie in der Photographie im ultravioletten Licht auf festen Lungenseuchenährböden zum erstenmal den Erreger der Maul- und Klauenseuche sichtbar machen konnten, wie es ihnen vor einiger Zeit auch bei dem Erreger der Lungenseuche

vielleicht gelungen ist. Doch Herr Dahmen selbst wird ja über diese neue Methodik zum Nachweis filtrierbarer Virusarten sprechen. Hinsichtlich der Züchtung des Erregers der Maul- und Klauenseuche unterscheidet er sich von meiner Methodik dadurch, daß er bei 33° züchtet, statt der flüssigen Nährböden nur feste verwendet und diese mit größeren Virusmengen beimpft, als ich es getan habe.

---

7. Vortrag. Dahmen (Berlin):

Züchtung und Morphologie des Erregers der Lungenseuche und der Maul- und Klauenseuche (Autoreferat).

Vortr. referiert über seine Arbeiten zur Züchtung des Erregers der Lungenseuche und der Maul- und Klauenseuche. Er weist entschieden die Angabe Titzes zurück, daß seine Züchtung der Maul- und Klauenseuche lediglich eine Modifikation der Titzeschen Versuche sei. Die Arbeiten des Vortragenden fußen auf einem ganz anderen Prinzip.

Neu war, daß es Dahmen gelungen ist, mit Kulturen aus Rinder- und Schweineaphthen die Seuche in typischer Form bei Rindern zu erzeugen.

Nach den bisherigen Versuchen Dahmens scheint es möglich zu sein, durch mehrfache subkutane Vorbehandlung von Kühen, diese gegen eine nachträgliche Infektion zu schützen.

Ein endgültiges Urteil über eine derartige Möglichkeit will Dahmen heute noch nicht abgeben.

Außerdem demonstrierte D. Diapositive des Lungenseuche- und Maul- und Klauenseucheerregers, die von Geh. Rat Frosch auf ultraphotographischem Wege gewonnen worden waren.

Aussprache zu den Vorträgen 6 und 7:

Pfeiler (Jena): Aufgabe der Wissenschaft ist, in allen Fragen, auch wenn sie noch so neu und bedeutungsvoll erscheinen, ruhig und objektiv zu prüfen. Unter diesem Gesichtspunkt halte ich mich für verpflichtet, gegenüber den besonders durch die Tagespresse gegangenen Mitteilungen, wonach Frosch den Erreger der Maul- und Klauenseuche „entdeckt" habe, einige Bilder zu projizieren, die Ihnen im Vergleich mit den von Herrn Dahmen projizierten zeigen werden, daß es nicht nötig ist, zur Darstellung des Erregers der Maul- und Klauenseuche die Photographie im ultravioletten Lichte heranzuziehen. Ich würde auch über einige in dieser Beziehung wichtige optische Fragen sprechen, unterlasse es aber mit Rücksicht auf die knapp bemessene Diskussionszeit (folgt Projektion der Abbildungen von v. Betegh-Fiume aus der Arbeit: Beiträge zur Aetiologie der Maul- und Klauenseuche, Centralblatt f. Bakt. 1. Abt. Orig. Bd. 60. Heft 1/2. 1911. S. 86, und Stauffacher, Neue Beobachtungen über den Erreger der Maul- und Klauenseuche, Polygraphisches Institut, Zürich, 1918). Die Aehnlichkeit in den Abbildungen ist unverkennbar. v. Betegh beschreibt den Erreger als runde oder ovoide Gebilde, deren nähere Struktur schwer nachweisbar ist. Häufig findet man Gebilde, die einen kleinen Fortsatz oder eine Geißel haben. Auch diplokokkenähnliche Gebilde (die Doppelstäbchen von Frosch, Zusatz von Pfeiler) sind zu sehen. Die kleinsten haben eine Größe von 0,2—0,3 μ, sind also nicht wesentlich von den von Frosch beschriebenen verschieden, die er als 0,1 μ und darunter groß bezeichnet hat. Dabei darf nicht vergessen werden, daß die Froschschen Photogramme meist aus Kulturmaterial von einem bestimmten Nährboden stammen, während v. Betegh genuine Aphthenlymphe dargestellt hat. Auch aus optischen Gründen sind die Größenunterschiede belanglos. Bezüglich der Stauffacherschen Befunde, die eine gewisse

Aehnlichkeit, z. B. in den sog. geschwänzten Formen, mit der Beschreibung v. Beteghs hervortreten lassen, möchte ich eine Stellungnahme vermeiden, insbesondere hinsichtlich ihrer Protozoennatur (Unruhe bei einzelnen Versammlungsteilnehmern). Meine Damen und Herren, es ist meine Pflicht, auf diese Dinge hinzuweisen. Wer sich mit diesen Fragen persönlich beschäftigt hat, kommt oft zu einem anderen Urteil, als wie es sich aus einer einseitigen Darstellung ergibt[1]). Besonders im Hinblick auf die von v. Betegh gegebene Darstellung ist heute schon die eingangs aufgestellte Behauptung berechtigt. Schon Simons (Sitzung der Berliner mikrobiologischen Gesellschaft vom 19. Mai 1924) hat darauf hingewiesen, daß die Darstellung des Erregers mit Hilfe der gewöhnlichen Optik möglich und durch Stauffacher bereits vielfach erfolgt sei[2]).

Ich darf dann noch einige Bilder projizieren, die sich auf die Ergebnisse meiner eigenen Züchtungsversuche beziehen. Diese Bilder sind u. a. bereits, bei weitem aber nicht das erste Mal auf der Jahrhundertfeier Deutscher Naturforscher und Aerzte im September 1922 vorgeführt worden. Die Züchtung des Erregers der Maul- und Klauenseuche ist also in krankmachender Form schon vor mehr als 2 Jahren durch mich erfolgt. Herr Titze hat davon gesprochen, daß Dahmen mit seinen Kulturen Erscheinungen habe erzeugen können, die an Maul- und Klauenseuche erinnerten. Herr Dahmen hat mit seinen Kulturen nur die bekannten Hautrötungen erzeugen können, wenn Meerschweinchen an den Sohlen der Hinterfüße geimpft wurden. Von diesen auf weitere Meerschweinchen 3-, 4-, 5mal übertragenes Material erzeugte dann schließlich bis höchstens millimetergroße Aphthen, die Herr Frosch seinerzeit in Berlin (28. Mai) als stark mitigiert bezeichnet hat. Derartige Rötungen haben wir in unseren Versuchen auch häufig gesehen, sie aber absichtlich nicht als Aphtheninfektionen bezeichnet, weil wir uns nicht einem frommen Selbstbetrug hingeben wollten, sondern von pathogenen Kulturen auch verlangten, daß sie wirklich deutliche Aphthen erzeugten. Das ist uns denn auch gelungen. Zum Beleg dessen lese ich Ihnen eine kurze Stelle aus einem von dem Präsidenten des Reichsgesundheitsamtes gezeichneten Berichte (13. Juli 1923) vor: „Geringste Abweichungen in der Zusammensetzung der Nährböden bedingen die Nichtinfektiosität der Kulturen. Infektionen sind bisher bei 16—66 Proz. der Impftiere zu erzielen gewesen, im Durchschnitt bei 32 Proz. Das ist gegenüber den anfänglichen Versuchen ein bedeutsamer Fortschritt! Indessen sind die genannten Ziffern vielleicht zu niedrig, da als positive Infektionen stets nur diejenigen verzeichnet worden sind, wo die Impftiere deutliche Aphthen, nicht aber fleckige Rötungen, bekamen. Später vorgenommene Immunitätsprüfungen haben ergeben, daß ein Teil der Tiere, bei denen es nicht zur Ausbildung von Aphthen kam, eine Immunität gegen Maul- und Klauenseuche besaß. Der Schluß dürfte daher zulässig sein, daß diese Tiere in leichter, aber für die Entstehung der Immunität ausreichender Form an Maul- und Klauenseuche erkrankt sind. Die durch Infektionen mit B-Kulturen krank gewordenen Meerschweinchen erwiesen sich mit einer Ausnahme immun."

Die Rötungen sind also auch von uns gesehen, auch richtig gedeutet, aber für die Berechnung der Zahl der positiven Infektionen nicht bewertet worden. Die Kummer- oder Hungerform konnten wir in einem Stamme bis in die 227. Generation in lückenloser Folge züchten, krankmachende Wirkungen haben

---

1) Stauffacher hat mir nach der Mikrobiologentagung eine Aufnahme von genuiner Aphthenlymphe, Vergrößerung 2000:1, geschickt. Sie zeigt genau dieselben Gebilde, die Frosch zur Darstellung gebracht hat, nämlich zum großen Teil stäbchenförmige, in den Konturen verschwommene Körperchen. Ich glaube kaum, daß es möglich sein wird, sie von den von Frosch zur Darstellung gebrachten zu unterscheiden. Ein absoluter Vergleich wird natürlich erst dann möglich sein, wenn die Bilder nebeneinander geprüft werden können. Es ist eine Selbstverständlichkeit, daß eine solche vergleichende Prüfung vorgenommen werden muß.

2) Bezüglich der Stauffacherschen Gebilde hat Dahmen im Schlußwort behauptet, daß sie zum Teil retouchierte Wiedergaben darstellten und infolgedessen keinen beweisenden Wert hätten. Ich habe die Originalphotogramme Stauffachers einem hervorragenden, gänzlich uninteressierten Kenner der Mikrophotographie vorgelegt. Auch er ist nicht imstande gewesen, nur Andeutungen einer Retouche bei ihnen zu entdecken. Sollten zum Zweck der Reproduktion in den Klischees solche Retouchierungen vorgenommen worden sein, so ist damit wohl beabsichtigt gewesen, an einzelnen Stellen der Bilder das Schema hervortreten zu lassen. Ich will zu diesem letzteren Umstand keine Stellung einnehmen. Ich urteile nur nach dem Originalphotogramm aus Aphthenlymphe, das eindeutig ist.

wir mit der 1., 2., 3., 19., 20., 34., ja selbst 41. und 43. Generation erzielt. (Es folgt die Projektion von 6 Photogrammen: das eine Kontrolltier zeigt die Erscheinungen der Maul- und Klauenseuche nach der Impfung mit gewöhnlichem Passagevirus, das also von Meerschweinchen zu Meerschweinchen weiter geimpft worden ist; die übrigen 5 Tiere sind mit Kulturvirus aus verschiedenen Generationsfolgen infiziert worden. Neben deutlicher Aphthenbildung, Austritt von Lymphe aus den Impfaphthen zeigt ein Teil der photographierten Pfoten an den Zehengliedern starke Schwellungs- und Entzündungserscheinungen. In zwei Fällen ist es zu einer Generalisation des Prozesses gekommen. Bei dem einen Tiere ist es nach Impfung an den Hinterfüßen und Angehen der Aphthen zur Aphthenbildung auch an den Ballen der Vordergliedmaßen und starker Zehenschwellung, bei dem anderen Tiere zur Aphthenbildung auch im Maul gekommen. Die Bilder sind zum Teil bereits an anderer Stelle veröffentlicht.)

Wenn Dahmen angegeben hat, daß es notwendig sei, um den Erreger aus der Aphthenlymphe zu züchten, ihn vorher von dieser zu trennen, so ist dies nicht richtig. Ich habe ohne eine solche Trennung krankmachende Kulturen erhalten. Das wird auch durch die Mitteilungen von Guth erwiesen, der gleichfalls in flüssigen Nährböden den Erreger hat direkt züchten können, und zwar nach einer neueren Veröffentlichung bis zur 9. Passage. Es muß festgestellt werden, daß in dem gleichen Berichte (Reichs-Gesundheitsamt) der Tatsache von Guth Erwähnung getan ist, daß es ihm im Juli 1923 bereits mehrfach gelungen gewesen sei, die Aphthenseuche durch Kulturen des Erregers zu erzeugen.

Die Dahmensche Beurteilung der Trübungen ist nur zu einem Teil richtig. Auch in getrübten Kulturen kann sich der Erreger gut und in krankmachender Form gehalten bzw. entwickelt haben, wie u. a. meine Infektionsversuche mit der sog. A-Form in der 32. und 33. Generation beweisen.

Nach allem scheinen, wie dies insbesondere aus den Worten von Herrn Titze (danach ist es bei der Nachprüfung mit den Dahmenschen Kulturen nicht in jedem Falle gelungen, Maul- und Klauenseuche zu erzeugen, vgl. die späteren Ausführungen von Dahmen über seinen neuen „besseren" Nährboden, die „Mastform", die meiner B-Form in mancher Beziehung näher kommen dürfte; Pfeiler) hervorgeht, die Dahmenschen Kulturen auch noch in einem gewissen Stadium des Kümmerns zu sein. Danach müssèn die Ansprüche, die anläßlich der Frosch-Dahmenschen Mitteilungen erhoben worden sind, eine Redression dahin erfahren, daß es Frosch mit Hilfe der Photographie im ultravioletten Lichte gelungen ist, den schon früher mit den gewöhnlichen optischen Hilfsmitteln dargestellten Maul- und Klauenseucheerreger gleichfalls zur Darstellung zu bringen. Mit Hilfe dieses Verfahrens mag es möglich sein, gewisse Feinheiten, die sonst nicht zutage treten, zur Darstellung zu bringen. Herr Dahmen hat den Erreger der Maul- und Klauenseuche nicht als Erster in krankmachender Form gezüchtet. Er hat das Verdienst, die feste Kolonie als Erster öffentlich zur Darstellung gebracht zu haben[1]). Die Kultivierung auf festen Nährböden ist für die Züchtung an sich belanglos. Die von Herrn Dahmen benutzte Technik ist ungefähr die gleiche wie die für den Lungenseucheerreger von Dujardin-Beaumetz und anderen beschriebene. Bezüglich der Deutungen, die Frosch seinen photographischen Befunden besonders bei der Lungenseuche (Hefezellen) gegeben hat, möchte ich anempfehlen, vorläufig noch eine abwartende Haltung einzunehmen. Bei der Kleinheit der Gebilde scheinen mir rein aus der Morphologie heraus derartige Analogieschlüsse noch verfrüht.

Mießner (Hannover): Ich stehe auf dem Standpunkt, den ich auch an anderer Stelle bereits vertreten habe, daß die Untersuchungen von Frosch und Dahmen einen gewaltigen Fortschritt auf dem Gebiete der Sichtbarmachung und Züchtung des filtrierbaren Virus bedeuten, die bahnbrechend für die künftigen Forschungen auf diesem Gebiete sein werden. Bezüglich der Kultur des Herrn Titze bin ich auch heute noch der Ansicht, die ich bereits auf der Tagung der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft im Februar 1922 (s. D. T. W. 1922. S. 103) zum Ausdruck gebracht habe. Ich hielt damals den Beweis, daß die von Titze mitgeteilten

1) Das Züchtungsverfahren auf festen Nährböden ist von Goerttler und mir bereits im Beginn des Jahres 1922 angewandt, aber aus bestimmten Gründen wieder aufgegeben worden.

Trübungen in den Nährböden als Wachstum anzusehen seien, nicht für erbracht, zumal der Tierversuch nicht gelungen und die Fortzüchtung nur bis zur 4. Generation möglich war. Die durch den Komplementbindungsversuch erwiesene Antigennatur erschien deswegen nicht als stichhaltig, weil es sich noch um Ausgangsmaterial handeln konnte. Ich stimme deswegen den heutigen Angaben Dahmens zu, nach denen es sich bei den Titzeschen Kulturen wahrscheinlich nur um Ausfällung gehandelt hat. Ebensowenig hielt ich den auf der Naturforscherversammlung in Leipzig 1922 vorgetragenen Züchtungsversuch von Pfeiler für erwiesen; ich entsinne mich auch nicht, daß Pfeiler seinerzeit die Diapositive betr. Ausbildung von sekundären Aphthen nach Infektion mit Kultur an den nichtinfizierten Gliedmaßen und an der Schleimhaut des Maules und der Zunge vorgeführt hat. Ein Vergleich mit den Abbildungen der Arbeiten von Betegh und von Stauffacher mit den in ganz anderer Weise gewonnenen Darstellungen Froschs erscheint mir nicht zulässig.

H. A. Gins (Berlin): Die Ergebnisse von Dahmen bezüglich der Kultur des M.-K.-S.-Virus lassen kritische Einwände nach zwei Richtungen zu. Da die Methode der Anreicherung des Virus durch Meerschweinchenpassagen bei negativem klinischen Befund des Ausgangstieres bisher nicht benutzt worden ist, muß festgestellt werden, ob nicht Spontaninfektionen auf diese Weise nachgewiesen werden können, die der Beobachtung bisher entgangen sind. Dahingehende Versuche haben bisher ergeben, daß diese Gefahr nicht groß zu sein scheint. Allerdings ist bei der Deutung kleiner Bläschen an den Sohlen der Versuchstiere Vorsicht angezeigt; denn wir haben solche Bläschen, von einer verdächtigen Zungenerosion ausgehend, einige Passagen weiterführen können, wobei es sich nicht um M.-K.-S. gehandelt hat.

Bei der Methode, mit der Herr Dahmen seine Kulturen anlegt, darf man an die Möglichkeit denken, daß Virus von einer Agaroberfläche auf die andere in größeren Mengen übertragen wird. Es könnte also eine Konservierung vorliegen. Wenn auch die lange Zeit, nach welcher das Virus nachgewiesen wurde — bei der 23. Passage über 200 Tage —, dagegen spricht, so muß doch dieser Punkt experimentell endgültig geklärt werden.

Die Kulturen des Herrn Titze enthalten nach meiner Ueberzeugung das Virus nicht. Da Uebertragungen auf das Tier nicht gelingen, halte ich die mitgeteilten Immunisierungen und die Komplementbindung, die außerdem meines Wissens in den letzten zwei Jahren nicht bestätigt sind, für nicht beweiskräftig genug, um daraufhin von einer Züchtung des Virus zu sprechen.

Was die Kulturen des Herrn Pfeiler betrifft, so habe ich den Eindruck, daß er das Experiment nicht völlig beherrscht und nicht immer positive Tierversuche bekommt. Ebenso ist es bei den Versuchen von Guth, welcher sich aus diesem Grund auch sehr vorsichtig ausgedrückt hat.

Paschen (Hamburg): Ich habe vor 16 Jahren mit Herrn Martini, dem damaligen Vertreter von Carl Zeiß in Hamburg, ultraphotographische Aufnahmen von Kinderlymphe gemacht. Es wurden auf den Platten kleine globoide Körperchen nachgewiesen, teils scharf, teils unscharf mit Zerstreuungskreisen, da sie in verschiedenen Ebenen lagen.

Mac Callum hat in einer vor 2 Jahren erschienenen Arbeit gezeigt, daß man durch Zentrifugierung bei scharfer Tourenzahl und durch Zusatz von spezifisch leichteren Flüssigkeiten zur Lymphemulsion die Elementarkörperchen isolieren kann. Vielleicht ist hierdurch ein Weg zur Züchtung gegeben.

J. Schumacher (Berlin): Der Herr Vortragende sagte, daß auf seinen Mikrophotogrammen Zelldetails zu sehen wären, die wir mit der Zellfärbung nicht darzustellen in der Lage wären. Ich möchte hier nur darauf hinweisen, daß in den ausgestellten Präparaten der Farbkulturen (siehe Vortrag „Zur Biologie der Bakterien") sehr viel Details zu sehen sind, die wir bisher bei der postmortalen Färbung nicht gesehen haben; ferner darf ich hier vielleicht erwähnen, daß man beispielsweise bei der postmortalen Färbung von Oidium lactis sehr oft (es hängt dies vom Entwicklungsalter der Kulturen ab) färberisch gar keine Details wahrnehmen kann, auch nicht nach Differenzierung mit Essigsäure, da die freie Nukleinsäure, die in den Zellen von Oidium lactis sich häufig vorfindet und sich beispielsweise mit Methylenblau ebenfalls sehr stark färbt, alles andere verdeckt. Entfernt man diese aber durch einfaches Aufkochen der Ausstriche in heißem Wasser und färbt

dann mit Methylenblau, so findet man alsdann in den einzelnen Zellen manchmal ein in der Mitte liegendes, manchmal zwei bis drei in der Zelle verteilte, runde, dunkelblau gefärbte Gebilde, die, ihren Reaktionen nach zu urteilen, als Nukleine anzusehen sind und wie Kerne aussehen, womit noch nicht gesagt sein soll, daß sie als Kerne fungieren.

Pfeiler (Jena): Die von mir heute vorgeführten Bilder entsprechen den auf der Jahrhundertfeier deutscher Naturforscher und Aerzte projizierten. Andere Photographien habe ich bis jetzt herzustellen unterlassen. Nur für ein Bild, nämlich das nicht näher signierte mit den Aphthen im Maul, ist es möglich, daß es seinerzeit nicht mit in Leipzig vorgeführt worden ist[1]). Damals war, soweit ich mich erinnere (gleichfalls Anfrage von Prof. Mießner), die 64. Generation der Kultur in der A-Form gelungen. Es kann entgegen den Behauptungen von Gins, daß es wohl nicht in jedem Falle möglich sei, die Maul- und Klauenseuche mit Kulturen zu erzeugen, heute gesagt werden, daß die Erzeugung der Seuche mit Kultur in jedem Falle möglich ist. Ich bin an der Fortführung meiner eigenen Arbeiten durch Arbeitsverbote, Mangel an einem Laboratorium behindert worden. Das ist im Interesse der wissenschaftlichen Forschung mehr als bedauerlich. Wenn Herr Gins angeführt hat, daß es Dahmen gelungen sei, mit einer 200 Tage alten Kultur die Maul- und Klauenseuche zu erzeugen, so weiß ich nicht, ob diese Ausführungen nicht auf einer zufälligen falschen Auffassung beruhen. Denn Herr Dahmen hat, soweit ich mich erinnere, nur von einer 26 Tage im Brutschrank gehaltenen Kultur gesprochen (Dahmen bestätigt, daß er mit einer 200 Tage alten Kultur die Seuche habe erzeugen können). Dann möchte ich demgegenüber auf meine erste Veröffentlichung in dieser Frage verweisen, die aus dem Februar 1922 stammt (Mitteilungen der Tierseuchenstelle, Jena. 2. Jahrg. Nr. 3): „Die Erzeugung der Seuche mit Kulturmaterial gelang aber nur in einem Falle, und zwar mit einer nach der Bebrütung rund 200 Tage bei Zimmertemperatur gehaltenen Kultur“[2]).

Ein letzter Hinweis sei mir noch gestattet. Es ist in den letzten Monaten dauernd behauptet worden, Frosch sei auch die Darstellung des Lungenseucheerregers gelungen. Auch diese Behauptung muß dahin redressiert werden, daß Frosch den Erreger mit Hilfe der Photographie im ultravioletten Lichte dargestellt hat, nachdem er von den Franzosen und Belgiern schon vor 1½ Jahrzehnten gezüchtet, gefärbt bzw. im lebenden Zustande genau untersucht worden ist. Deutsche Nachprüfungen von Poppe, Pfeiler, Titze, Giese u. a. haben diese Befunde schon vor langem bestätigt.

Rocha-Lima (Hamburg): Ohne ein Urteil über den mir nur aus den hier projizierten Bildern bekannten Befund fällen zu wollen, möchte ich mir doch erlauben, einen bei der Demonstration erhaltenen Eindruck zu erwähnen, der, wenn er richtig wäre, eine gewisse Skepsis gegenüber der Deutung der fraglichen Gebilde als Erreger rechtfertigen würde. Die Angabe der Vergrößerung, bei welcher

---

1) Die Bilder sind auf Befragen durch mich von den in Leipzig anwesend gewesenen Herren Professoren Kührs und Schermer identifiziert worden. Sie sind außerdem in einem Berichte vom 5. Dez. 1922 an das Thüringische Wirtschaftsministerium, S. 20, niedergelegt, so daß Herrn Mießners Einwand auch dadurch entkräftet wird.

2) Wenn Dahmen berichtet hat, daß in einem vor wenigen Tagen ausgeführten Versuche von 3 mit Kultur infizierten Rindern eines an Maul- und Klauenseuche erkrankt sei, so sei demgegenüber darauf hingewiesen, daß nach der Bekundung von Kommissions- bzw. Aufsichtsmitgliedern bei meinen im Winter 1923/24 in Holland durchgeführten Immunisierungsversuchen mit der A-Form (deren Anwendung nur unter der Garantie gestattet wurde, daß sie nicht pathogen sei) einige Tiere gleichfalls an Maul- und Klauenseuche erkrankt sind. In einem Falle war eine typische Aphthe entstanden. Es ist demnach sogar mit meiner Kummerform möglich gewesen, die Seuche zu erzeugen. Der Name „Mastform“ von Frosch und Dahmen zeigt die Analogie ihrer Versuche und der dabei obwaltenden Verhältnisse im Vergleich zu meiner „Hunger- oder Kummerform“ auf das deutlichste.

ein Mikrophotogramm aufgenommen worden ist, sagt uns bei der Betrachtung der gegen die Wand geworfenen Bilder so gut wie nichts. Es fehlt ein Maßstab. Erst durch den Vergleich mit bekannten Größen, z. B. Blutzellen, bekannten Mikroorganismen usw., können wir uns eine Vorstellung der Größe eines mikrophotographierten Gebildes machen. Bei den hier vorgeführten Projektionsbildern wurden die als Erreger angesprochenen Gebilde neben einem Leukozyt gezeigt. Die Größe dieser Gebilde im Vergleich zum Leukozyt war aber so wie die eines großen Kokkus oder vielleicht sogar wie die einer kleinen Hefezelle. Jedenfalls war das Größenverhältnis weit von dem entfernt, was bei einem als fast submikroskopisch gedachten Mikroorganismus erwartet werden dürfte. Vielleicht ist der Vortragende in der Lage, den aus dieser Tatsache entstehenden Zweifel zu beseitigen.

Dahmen (Schlußwort): Pfeiler hat die Befunde Stauffachers angeführt und gesagt, daß Stauffacher dieselben Gebilde gesehen hat, wie sie von Herrn Geh. Rat Frosch dargestellt worden sind. Wie man aber die von St. beschriebenen Flagellatenformen mit unseren Stäbchen identifizieren kann, ist mir unverständlich. Bei verschiedenen Photogrammen, die von Stauffacher veröffentlicht worden sind, kann man, wie auch Hahn auf der Sitzung der Berl. Mikrobiol. Gesellsch. vom 19. Mai 1924 mitteilte, Retouchierungen konstatieren. Ein wissenschaftlich ernst denkender Mann wird solchen Bildern wohl keinen Glauben mehr schenken.

Zu den von Pfeiler angezogenen Befunden Beteghs bemerke ich, daß sie gegenüber unseren Stäbchen viel zu groß sind. Ich glaube nicht, daß Pfeiler mit der optischen Ausrüstung Beteghs in unseren Kolonien die Stäbchen darstellen kann.

Das Urteil, ob Pfeiler oder mir für die Züchtung des Maul- und Klauenseuche-Erregers die Priorität zusteht, überlasse ich der wissenschaftlichen Welt. Wenn für die Pfeilerschen Befunde die Bestätigung erbracht wird, bin ich nicht so ehrgeizig, die Priorität für mich in Anspruch zu nehmen.

Pfeiler sagt, daß die Prozentzahl seiner mit Kultur infizierten Tiere sich erheblich steigern würde, wenn er jede Rötung an den Skarifikationen als Maul- und Klauenseuche ansehen würde. Ich sehe eine solche Rötung auch nicht als Maul- und Klauenseuche an, sondern verlange, daß von diesen Rötungen aus die Maul- und Klauenseuche in typischer Form erzeugt werden muß.

Wenn Pfeiler anführt, daß es ihm vor mir geglückt sei, mit einer über 200 Tage alten Kultur die Maul- und Klauenseuche bei Meerschweinchen in typischer Form zu erzeugen, so ist dabei zu bemerken, daß meine Kulturen über 200 Tage im Brutschank gestanden haben, während Pfeiler seine Kultur nach kurzem Brutschrankaufenthalt bei Zimmertemperatur aufbewahrt hat. Darin dürfte doch ein wesentlicher Unterschied sein.

Ueber die Angaben Pfeilers zu den Befunden Bordets bei der Lungenseuche möchte ich sagen, daß die von Bordet abgebildeten Elemente erstens viel größer sind als die von Frosch dargestellten und zweitens, daß Bordet durch die Materialentnahme vom beimpften Keuchhustennährboden derartig viel Material des Nährbodens mitfärbt, daß diese Bilder nicht einen Formenkreis des Lungenseucheerregers darstellen, sondern Erreger und Nährbodenmaterial zur Sicht bringen, zwischen denen eine Unterscheidung, was Erreger und was Nährbodenmaterial ist, nicht möglich ist.

Auf die von Gins angeführte Möglichkeit, daß ich in meinen Kulturen das Ausgangsmaterial mitgeführt habe, bemerke ich, daß ich von einer Kultur gewöhnlich 20 Subkulturen anlege, so daß bei einer 23. Generation eine derartige Verdünnung des Virus eingetreten sein muß, die eine Infektion nicht mehr ermöglicht. Andererseits würde man auch für die immer wieder in ungeheurer Anzahl wachsenden Kolonien vergeblich nach einer Erklärung suchen.

Ueber die Anfragen betreffs der Größenverhältnisse der demonstrierten Erreger wiederhole ich, was ich schon im Vortrag gesagt habe, daß die Messungen von Herrn Geheimrat Frosch am photographischen Negativ ausgeführt worden sind.

3. Tag. Sonnabend, den 14. Juni 1924.

Vorsitzende: Lentz (Berlin), Kraus (Wien).

8. Vortrag (mit Lichtbildern). R. Kraus (Wien):

Ueber Infektionskrankheiten und Epizootien in Südamerika.

(Vergl. Wiener klin. Wochenschr. u. Med. Klinik 1924.)

---

9. Vortrag. H. Mießner und G. Baars (Hannover):

Das d'Herellesche Phänomen an Rotlaufbakterien.

(Mit 2 Abbildungen im Text.)

Seit der Veröffentlichung der d'Herelleschen Versuche sind in allen Ländern, besonders auch in Deutschland, von vielen Seiten Untersuchungen zur Erklärung des eigenartigen Vorgangs der „Bakteriophagie" durch Stuhl- bzw. Bouillonkulturfiltrate angestellt. Die Frage, ob es sich bei diesem Vorgang gemäß der d'Herelleschen Auffassung um die Wirkung eines lebenden Organismus — Bacteriophagum intestinale — oder, wie die Gegner annehmen, um die Tätigkeit fermentativer Substanzen (Wachstumshormone, Stoffwechselgifte, Autolysine), die durch eine vererbbare Stoffwechselstörung der Bakterien gebildet werden, handelt, ist jedoch bis heute noch nicht entschieden. Die meisten deutschen Forscher neigen der letzteren Annahme zu, jedoch finden sich auch hier Anhänger der d'Herelleschen Hypothese. So hat z. B. Prausnitz die Größe des „Bakteriophagen" durch Membranfiltration auf 20 $\mu\mu$ festgelegt, ein Wert, der von v. Angerer auf optischem Wege annähernd bestätigt wurde. So groß auch das Interesse an dieser theoretischen Fragestellung ist, so soll im folgenden darauf nicht eingegangen werden, vielmehr beschäftige uns zunächst die praktische, d. h. therapeutische Nutzanwendung dieser bakteriziden Stoffe. Die von d'Herelle schon in seinen ersten Veröffentlichungen mitgeteilten therapeutischen Erfolge bei Typhus, Dysenterie, hämorrhagischer Septikämie der Büffel und beim Hühnertyphus berechtigten zu den größten Hoffnungen und forderten zu entsprechenden Versuchen heraus.

d'Herelle stellt sich den Immunisierungsvorgang als Kampf zwischen dem pathogenen Agens, dem Krankheitserreger, und dem immunisierenden Agens, dem „Bakteriophagen" vor. Den Eintritt der Genesung bezeichnet er als eine Folge der Bakteriophagie. Die Auffassung stützt er besonders durch Beobachtungen über das Auftreten und Verhalten der bakteriolysierenden Substanzen bei der menschlichen bakteriellen Ruhr. Er nahm diesbezügliche Untersuchungen an etwa 50 Ruhrkrankheitsfällen vor, indem er den Gehalt des Stuhles an bakteriolysierenden Substanzen mit dem klinischen Krankheitsbilde des Patienten (Zahl der Stühle) verglich. Dabei machte er die Beobachtung, daß die Heilung mit dem Auftreten lysierender Sub-

stanzen einsetzte. Das klinische Krankheitsbild lief mit dem Auftreten und der Stärke des „Bakteriophagen" parallel. Die Wirksamkeit des lytischen Agens richtete sich zunächst gegen Colibakterien, dann aber auch gegen Shiga-Kruse-Laboratoriumsstämme, und schließlich wurde auch der Patientenstamm gelöst. Entsprechende Beobachtungen machte d'Hérelle auch bei der Wild- und Rinderseuche und dem Hühnertyphus: bei allen diesen Erkrankungen beobachtete er stets vom Eintreten der Rekonvaleszenz an im Kot das Auftreten eines gegen den ursächlichen pathogenen Erreger wirksamen „Bakteriophagen", den man isolieren und in vitro ad infinitum auf Kosten dieses Bakteriums weiterzüchten kann. Auch die Uebertragbarkeit des „Bakteriophagen" von Mensch zu Mensch bzw. Tier zu Tier hält d'Herelle für erwiesen. Brachte er bakteriophagenfreie Hühner mit bakteriophagentragenden Hühnern zusammen, so konnte er bereits nach 2—3 Tagen im Kot der ersteren den „Bakteriophagen" nachweisen. Es soll somit die Immunität „im selben Maße ansteckend" sein wie die Krankheit selbst, und das Erlöschen einer Epizootie durch „die Infektion mit dem Bakteriophagen" zustande kommen. So soll man gegen Ende der Epizootie den wirksamen „Bakteriophagen" neben dem ursächlichen Erreger bei allen Tieren finden, sowohl bei dauernd gesund gebliebenen, als auch bei genesenden kranken; in letzterem Falle ohne Ausnahme. Die Seuche soll erlöschen, sobald alle empfänglichen Individuen durch den wirksamen „Bakteriophagen" „infiziert" sind. Der therapeutische Effekt soll nach d'Herelle sofort mit der Einverleibung durch Auflösung etwa vorhandener lysosensibler Keime durch den „Bakteriophagen" einsetzen. Aber auch die in dem Lysat gelösten bakteriellen Substanzen sollen durch Antikörperbildung eine spezifische Immunisierung auslösen. Eine negative Phase der „Bakteriophagen-Immunisierung" durch Bildung von Antikörpern gegen den zur Immunisierung verwendeten „Bakteriophagen" soll erst nach der zweiten Injektion bemerkbar werden.

Nach diesen Feststellungen ist es erklärlich, daß d'Herelle dem Bakteriophagen in der Therapie eine bedeutende Rolle zuspricht, zumal die von ihm an Menschen und Tieren in der Praxis angestellten Versuche eine völlige Bestätigung der immunisierenden bzw. heilenden Fähigkeit der verschiedenen „Bakteriolysate" erbracht haben sollen.

Beim „Hühnertyphus" gelang es d'Herelle, durch stomachale oder subkutane Applikation eines gegen das „Bact. gallinarum s. sanguinarum" gerichteten Lysats kranke Hühner zu heilen und gesunde Hühner gegen die Erkrankung zu schützen. Die Versuche sind während eines Seuchenganges durchgeführt und erstreckten sich auf 25 Ställe mit zusammen 2100 Tieren. Jeder dieser 25 Ställe hatte während der letzten 14 Tage vor der Behandlung 20—50 Proz. des Bestandes verloren. Bei 600 Tieren bestand die Behandlung in stomachaler Verabreichung von 1 ccm, bei 500 Tieren in subkutaner Verimpfung von $^1/_2$ ccm des wirksamen Lysats. Mit dem Zeitpunkt der Behandlung soll die Mortalität in allen 25 Beständen sofort aufgehört haben, während in benachbarten unbehandelten Beständen die Seuche weiter wütete. Die Behandlung von 100 bereits erkrankten Tieren ergab, daß Tiere, die den Höhepunkt der Erkrankung noch nicht erreicht haben, durch stomachale oder subkutane Verabreichung des lytischen Agens in 90 Proz. der Fälle zu retten waren.

Auch die Immunisierungsversuche bei der in Indochina als „Barbone" oder Pasteurellosis bubalorum bekannten Büffelseuche, hervorgerufen durch ein Bakterium aus der Gruppe der Erreger hämorrhagischer Septikämien (B. bubalisepticum), die im Pasteur-Institut von Saigon, gemeinsam mit dem Chef des Veterinärwesens in Cochinchina, Le Louet, an mehr als 100 Büffeln und Rindern durchgeführt wurden, sollen zu ausgezeichneten Erfolgen geführt haben. Danach soll die Injektion von $^1/_4$ ccm einer „Bakteriophagenkultur" eine Resistenz verleihen, mittels der die Tiere einer Infektion der 1000fachen, sicher tödlichen Dosis der pathogenen Bakterienkultur widerstehen. Eine einzige Injektion von $^1/_{25}$ ccm des gegen das Bact. bovisepticum wirksamen Lysats soll die Tiere gegen eine 4 Tage später folgende Infektion mit der 5fachen tödlichen Dosis schützen; 60 Tage später soll der Schutz bereits gegen eine 50fache tödliche Dosis ausreichen. Selbst bei einer so minimalen immunisierenden Dosis soll das Blut derartig behandelter Tiere Schutzstoffe in so ausreichendem Maße enthalten, daß durch die Injektion von 500 ccm Blut eines mit Lysat vorbehandelten Tieres ein anderes Tier gegen gleiche Infektionsdosen geschützt werden kann.

Auch durch Kaninchenversuche glaubt d'Herelle die immunisierende Wirkung von Bakterienlysaten nachgewiesen zu haben. Shiga-Kruse-Bakterien sollen durch die Auflösung ihre Toxizität für Kaninchen verlieren. Schon nach 6 Std. der Einwirkung des lytischen Agens auf die Bakterien soll die Toxizität deutlich abgeschwächt sein. Von einem 6 Tage alten Lysat vertragen die Tiere bereits

3 ccm, von einem 5 Wochen alten 15 ccm selbst bei intravenöser Applikation. Tiere, die derart mit $^1/_4$ ccm Shiga-Kruse-Lysat behandelt wurden, sollen gegen die Infektion mit Shiga-Kruse-Bakterien immun sein.

Beim Menschen hat d'Herelle in 7 schweren Dysenteriefällen durch stomachale Verabreichung von 1 ccm einer entsprechenden Bakteriophagenkultur schnelle Genesung herbeigeführt. In allen 7 Fällen sollen im Stuhl Blut und Dysenteriebakterien nach 24—36 Std. zum Verschwinden gebracht sein.

Irgendwelche Reaktionen lokaler oder allgemeiner Art wurden von d'Herelle weder beim Menschen noch bei Tieren durch die Verabreichung der Bakteriolysate beobachtet.

In der Folgezeit sind Versuche zur therapeutischen Auswertung des d'Herelleschen Phänomens vielfach angestellt. Die Urteile über den Erfolg der Bakteriophagentherapie gehen jedoch so weit auseinander, daß es nicht möglich ist, aus ihnen den Wert der Therapie genau zu umgrenzen. So viel läßt sich aber sagen, daß die d'Herellesche Immunisierungstheorie bisher praktisch keine Bestätigung gefunden hat.

Das lytische Agens läßt sich bald nach der Injektion, wie Otto und seine Mitarbeiter, ferner Appelmans, Werthemann u. a. feststellten, im Blute nachweisen, einerlei, ob es experimentell im Körper, z. B. durch intraperitoneale Injektion von Bakterien erst erzeugt oder dem betr. Individuum subkutan oder sonstwie injiziert wird. Mit dem Blute wird also eine Verteilung des Lysates über den ganzen Organismus stattfinden. Sind im Körper irgendwo lysosensible, lebende Keime vorhanden, die von der Blutbahn aus erreichbar sind, so müßte theoretisch ohne Rücksicht auf die Größe der einverleibten Lysindosis der therapeutische Effekt, d. h. die Vernichtung der Keime unter Vermehrung des lytischen Agens einsetzen. Nach Werthemann verschwinden bakterienfreie übertragbare Lysine aus dem Blute von Kaninchen und Meerschweinchen allmählich, d. h. nach den für kolloidal gelöste Eiweißkörper ermittelten Gesetzen. Beim Kaninchen sind Colilysine bis zum 5. Tage nach der intravenösen Einspritzung im Blute nachzuweisen. Eine Lysinvermehrung im Blute bei intravenöser Injektion soll nur eintreten, wenn sich die lebenden lösbaren Bakterien im Blute vermehren.

Im allgemeinen werden schädliche Nebenwirkungen nach der Injektion von keimfreien Lysaten in kleinen Dosen weder bei Menschen noch bei Tieren beobachtet. d'Herelle konnte bei Menschen gegen Shiga-Ruhr wirksame Filtrate sogar in einer Menge bis zu 30 ccm ohne jegliche schädliche Wirkung subkutan einspritzen. Gelegentlich sind jedoch auch entgegengesetzte Wahrnehmungen gemacht worden.

Bruynoghe und Maisin stellten bei gesunden Menschen nach subkutaner Injektion von Lysatfiltraten Temperaturerhöhung bis 39° C während 24—48 Std., Schüttelfrost, Kopfschmerz, Schlaflosigkeit, schmerzhafte Schwellung und Rötung der Injektionsstelle und nach deren Rückgang Oedem und Pruritus fest. Die gleichen Erscheinungen beobachteten Gratia und Jaumain, selbst wenn sie das lytische Agens durch Erhitzung auf 75° vorher unwirksam gemacht hatten. Sie schließen daraus, daß die Erscheinungen auf Bakterienzerfallsprodukte zurückzuführen sind. Entscheidend für das Auftreten und den Umfang von schädlicher Nebenwirkung wird sicherlich die Größe der einverleibten Dosis sein. Kaninchen, denen Werthemann intravenös 9 ccm Colilysin injizierte, gingen 3 Std. nach der Applikation ein. 5 ccm des gleichen Lysins riefen ein stundenlanges Kranksein hervor; die Tiere saßen apathisch da, nahmen keine Nahrung auf und hatten erhöhte Körpertemperatur.

Die zur Nachprüfung der d'Herelleschen glänzenden therapeutischen Versuchsergebnisse bisher angestellten Untersuchungen beschränken sich auf infektiöse Darmerkrankungen und lokale infektiöse Eiterungen und Entzündungsprozesse bzw. auf Tierversuche mit Erregern derartiger Erkrankungen.

Otto, Munter und Winkler konnten im Tierversuch am Meerschweinchen zwar eine Wirkung des Lysins bei gleichzeitiger Injektion von Lysin und entsprechenden Bakterien nachweisen, jedoch ließen sich bei ruhrkranken Menschen weder bei der Verabreichung per os und per klysma, noch bei intramuskulärer Applikation eindeutige Erfolge feststellen. Jötten teilt mit, daß Heilversuche an einigen Typhuskranken bei einmaliger subkutaner Injektion von wirksamen Filtraten bezüglich des Heileffektes zu keiner einwandfreien Beurteilungsmöglichkeit geführt haben. Davison fand bei Versuchen an ruhrkranken Kindern und im Tierversuch, daß bakteriophage Filtrate zwar unschädlich, aber auch unwirksam und daher für therapeutische Versuche ungeeignet seien. Appelmans vermißte im Tierversuch bei Paratyphusinfektion jede Schutz- und Heilwirkung. Auch die Entkeimung von Typhusbazillenträgern mittels Bakteriophagentherapie gelang ihm nicht. Zu gleichen Ergebnissen kamen Doerr und Grüninger. Kaninchen,

bei denen sie Colibakterien in der Gallenblase zur Ansiedelung gebracht hatten, konnten durch Applikation von Colilysinen nicht von den Bakterien befreit werden. Im Gegenteil, sie empfehlen vielmehr, um zu einer Ansiedlung der Colibakterien in der Gallenblase anzureizen, die Bakterien zusammen mit dem zugehörigen Lysin in die Blutbahn einzuspritzen. Es sollen dann die Bakterien in der Gallenblase viel besser haften, als wenn nur die Bakterien allein eingespritzt werden. Mießner und Baars schließen in ihrer ersten Mitteilung aus Versuchen an 3 paratyphuskranken Ferkeln, daß es „fraglich" erscheint, ob mit Lysaten wesentliche Heileffekte erzielt werden können.

Auf der anderen Seite werden aber auch günstige Erfahrungen mitgeteilt. Unter dem Vorbehalt, daß die therapeutische Verwendung von bakteriophagen Filtraten sich noch im Versuchsstadium befinde, veröffentlichen Beckerich und Hauduroy als Anhänger der d'Herelleschen Bakteriophagentheorie Beobachtungen an 10 Fällen von Typhus und Paratyphus des Menschen, in denen der Verabreichung von Lysaten per os, (zuweilen zugleich subkutan) am nächsten oder übernächsten Tage meistens Entfieberung folgte. Auch Costa Cruz (zit. nach Marcuse) will gute Erfolge bei der Dysenterie des Menschen erzielt haben. Metalnikow berichtet über Versuche, in denen es ihm gelang, Raupen durch Lysine vor der schädlichen Wirkung einer Shiga-Infektion zu schützen. Die Kontrolltiere gingen nach 24 Std. zugrunde, während die behandelten Tiere überlebten.

Bei lokalen Eiterungsprozessen, die durch Staphylokokken hervorgerufen werden, lauten die Berichte über den Erfolg der Bakteriophagentherapie mit Staphylokokken-Lysaten, allgemein günstiger. Appelmans, der die therapeutische Beeinflussung von Paratyphus- bzw. Typhusinfektionen verneint, räumt dieser Therapie bei Staphylokokkenerkrankungen des Menschen eine gewisse Bedeutung ein, obwohl er dafür im Tierversuch keine Bestätigung fand. Wie Bruynoghe und Maisin, so haben auch Beckerich und Hauduroy bei Staphylokokkeninfektionen (Furunkulose) durch Lysate eine beschleunigte Heilung erzielt. Sie verwendeten ein Gemisch von Anti-Staphylococcus aureus-, Anti-Staphylococcus albus- und Anti-Enterococcus-lysaten, die vorher gegenüber den isolierten Mikroorganismen in vitro auf ihre Wirksamkeit geprüft waren. Dabei beobachteten sie, daß die Krankheitserreger bei chronischer Erkrankung häufig lysoresistent sind. Die beschleunigte Abheilung soll sich durch rasche Resorption oder Erweichung und Aufbrechen mit nachfolgender reaktionsloser Vernarbung äußern. Bestätigt werden diese Wahrnehmungen ferner durch Gratia und Gratia u. Jaumain für Staphylokokkenerkrankungen des Menschen und Kaninchens.

Bei Streptokokkenerkrankungen liegen die Verhältnisse anders, da es anscheinend zumindest schwer gelingt, gegen Streptokokken wirksame Filtrate zu gewinnen. Zwar berichtet Piorkowski, mit Lysaten, die er aus Patientenblut von an akuten septikämischen Streptokokkenerkrankungen leidenden Menschen gewonnen hatte, in vitro eine deutliche Aufhellung der Streptokokkenbouillonkultur hervorgerufen zu haben, jedoch sind Angaben über die Wirksamkeit der Filtrate im Plattenversuch, der doch den eindeutigsten Beweis für die lytische Fähigkeit von Filtraten zu erbringen vermag, nicht gemacht. Auch stehen diesen Angaben Piorkowskis eine Reihe von Versuchen anderer Autoren gegenüber, denen es nicht gelang, gegen Streptokokken wirksame Lysate zu erhalten. So haben Otto und Munter die Angaben Piorkowskis unter gleichen Nährbodenbedingungen nachgeprüft und außerdem weitere Versuche unter Benutzung verschiedener Versuchsbedingungen angestellt, ohne daß es ihnen gelang, das lytische Agens nachzuweisen. Piorkowski berichtet auch über gute Erfolge mit Streptokokkenlysaten im Tierversuch bei Mäusen. Drei Wochen nach der Injektion von 1 ccm „Aufhellungsflüssigkeit" sollen Streptokokken im Blute von Mäusen nicht mehr nachzuweisen gewesen sein, während sie im Blute von Kontrolltieren noch enthalten waren. Die angekündigte Veröffentlichung der Versuchsprotokolle ist bisher nicht erfolgt.

Eichhoff konnte zwar gegen Streptokokken und Staphylokokken aus Eiter und Stuhl von Kranken, die an eitrigen Prozessen litten, Filtrate gewinnen, die im Kulturversuch eine recht erhebliche Keimzahlverminderung bedingten, jedoch beobachtete er keine Auflösung von Eiterbakterien und keine Flatterformen. Ueber begonnene therapeutische Versuche, die er für aussichtsreich hält, nachdem die Unschädlichkeit der parenteralen Applikation solcher Lysate am Menschen festgestellt war, ist eine Veröffentlichung bisher nicht erfolgt.

Interessant sind die Untersuchungen von Marcuse, die eine besondere Beachtung verdienen. Marcuse stellte therapeutische Untersuchungen mit Colilysinen an Meerschweinchen an, die er durch Injektion von Colibakterien in die Blase nach vorheriger Reizung der Blase durch Eiswasserinfusion zur Dauerausscheidung von Colibakterien veranlaßt hatte. Auf diese Weise erzeugte er einen lokalen in-

fektiösen Prozeß. Marcuse ist geneigt, etwaige Mißerfolge bei der Bakteriophagentherapie dadurch zu erklären, daß das lytische Agens wahrscheinlich nach der Resorption durch den Körper nicht als solches und in unverminderter Wirkung an die Krankheitskeime herantritt. Es erschienen ihm daher nur solche Prozesse für die Bakteriophagentherapie geeignet, wo es gelingt, Lysat und lysosensible Keime in direkten Kontakt miteinander zu bringen. Als hervorragend geeignet für eine derartige Therapie hält er Erkrankungen wie Gonorrhoe, Diphtherie, Kokkenerkrankungen (Furunkel, Phlegmonen, Empyeme, Cholezystitiden), infektiöse Darmerkrankungen bei Anwendung einer besonderen Technik und die Cystitis des Menschen. Im Meerschweinchenversuch gelang es Marcuse, die bestehende Infektion-Dauerausscheidung des eingespritzten Colistammes durch mehrmalige intravesicale Injektion von Lysat zu beheben, wie durch täglich angelegte Plattenkulturen bei gleichzeitiger Beobachtung von Kontrollen festgestellt wurde.

Eigene Versuche.

Bakteriophagentherapie beim Paratyphus der Ferkel.

Wie allgemein anerkannt, sind aus dem Körper des Menschen und des Tieres (gelegentlich auch aus Laboratoriumskulturen) gegen Darmbakterien wirksame Lysate unschwer zu gewinnen. Dabei spielt es entgegen der Ansicht d'Herelles keine entscheidende Rolle, ob es sich um gesunde, rekonvaleszente, kranke oder verendete Individuen handelt. Vor allem sind es bakteriophage Lysate gegen Bakterien aus der Coli-Typhusgruppe, deren Nachweis sich besonders bei den durch diese Bakterien hervorgerufenen Darmerkrankungen in Stuhlbouillonkulturfiltraten, vereinzelt auch in Herzblutbouillonkulturfiltraten, leicht führen läßt. Das häufige regelmäßige Vorhandensein von gegen die betr. Erreger wirksamen Lysaten im Körper Genesender, das von einigen Autoren hervorgehoben und besonders von d'Herelle als Stütze für die Immunisierungsmöglichkeit mit spezifisch wirksamen Lysaten herangezogen wird, ist nach unseren Beobachtungen nicht so einseitig zugunsten Genesender. Wir konnten gegen Paratyphusbakterien wirksame Lysate vielfach, zum Teil von außerordentlicher Wirksamkeit, aus an Paratyphus verendeten Affen und Schweinen züchten, während uns die Gewinnung aus Schweinen, die sich im Rekonvaleszenzstadium befanden oder die Infektion überstanden hatten, in vielen Fällen nicht gelang. Wenn somit die Lehre d'Herelles von der lebensrettenden „immunisierenden" Fähigkeit des „Bakteriophagen", dessen Nachweis ihm bei verendeten Tieren niemals gelang, nicht bestätigt werden konnte, so gaben doch unsere kulturellen Versuche, die die vernichtende Wirkung gewisser Stuhlfiltrate gegenüber gleichzeitig aus dem betr. Individuum gezüchteten Paratyphusstämmen demonstrierten, gewisse Hoffnung der therapeutischen Verwendungsmöglichkeit solcher hochwirksamen Lysate. Die Frage der Lysoresistenz mag zunächst einmal unberücksichtigt bleiben.

Wir haben dementsprechend therapeutische Versuche an paratyphuskranken Ferkeln ausgeführt. Ueber das vorläufige Ergebnis wurde in unserer ersten Mitteilung dahin berichtet, daß die Erzielung wesentlicher Heileffekte mit Hilfe der Bakteriophagentherapie fraglich erscheine. Ueber die damals noch nicht abgeschlossenen Versuche in der Praxis sei im folgenden kurz referiert.

Es handelte sich um einen Ferkelbestand von 67 paratyphuskranken Absatzferkeln. Die Krankheitserscheinungen bestanden in Kümmern, Durchfall, Husten. Mehrfach vorgenommene bakteriologische Untersuchungen verendeter Tiere ergaben einheitlich Paratyphusallgemeininfektion. Die Behandlung bestand in einmaliger subkutaner Anwen-

dung von 1 ccm der gegen Paratyphus wirksamen, aus Schweinen gleichen Bestandes gewonnenen Mischlysate. Impfreaktionen wurden nicht beobachtet. Obwohl die verwendeten Mischlysate in vitro eine starke lytische Wirkung zeigten, führte die Behandlung mit ihnen zu keinem offensichtlichen Heilerfolg, so daß der Besitzer eine spezifische Serotherapie wünschte. Bei der auf unsere Bitte bei 10 Tieren nach einem Monat fortgesetzten Behandlung mit Lysat (zweite subkutane Einspritzung von 1 ccm Lysat) verschwand zwar 3 Wochen nach der Impfung Husten und Kümmern, so daß die Tiere einen gesunden Eindruck machten, jedoch verkaufte der Besitzer diese Tiere vor den mit Serum und Vakzine behandelten Kontrollen. Ob die Genesung der 10 zweimal mit Lysat behandelten Ferkel auf die Behandlung hin oder aber spontan erfolgt ist, wie es bei älteren Paratyphusferkeln, die das akute Stadium der Erkrankung überschritten haben, häufig ist, läßt sich natürlich nicht entscheiden.

Versuche mit Rotlaufbakterien.

Da sich bei infektiösen Darmerkrankungen, wie z. B. dem Paratyphus der Ferkel, infolge des häufig verzögerten, eventuell chronischen Verlaufs die Beurteilung des Erfolges therapeutischer Versuche schwierig gestaltet und die etwaige Besserung zumeist nicht offensichtlich ist, lag uns daran, diese Frage mit Lysaten gegen Erreger akuter septikämischer Seuchen entsprechend den d'Herelleschen Versuchen bei der „Büffelseuche" zur Entscheidung zu bringen. Die Gelegenheit zur Ausführung solcher Versuche erhielten wir, als es uns gelungen war, aus Kotbouillonkulturfiltrationen eines an septikämischem Rotlauf verendeten Schweines (1383) ein gegen den aus dem gleichen Kadaver gezüchteten Rotlaufstamm wirksames Lysat zu erhalten. Der Erfolg war auch insofern beachtenswert, als Versuche anderer Autoren (Borchardt, Bürgers und Bachmann) gegen grampositive Bakterien (außer Staphylokokken, deren Lysinanfälligkeit verschiedentlich dargetan ist), wirksame, fortzüchtbare Lysate zu gewinnen, fehlgeschlagen waren. Bürgers und Bachmann versuchten zu diesem Zweck unter Verwendung von Milzbrand- und Wurzelbazillen, Pseudodiphtherie- und Rotlaufbakterien sowie Staphylokokken, die verschiedensten Methoden, wie Umwandlung grampositiver in gramnegative Bakterien, durch Säureaufschließung, ferner längere Bouillonzüchtung, Extraktion in destilliertem Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung, Zusatz verdünnter Antiforminlösung, Preßextraktion und Verdauung durch verschiedene Pepsin- und Trypsinpräparate. In etwa 200 in der verschiedensten Weise variierten Versuchen gelang es ihnen nur einmal, ein Filtrat zu erhalten, das Schweinerotlaufbouillon klärte und im Plattenversuch einwandfrei sterile Flecken hervorrief. Eine Fortzüchtung in Passagen war jedoch nicht möglich. Aus ihren zahlreichen Versuchen schließen Bürgers und Bachmann, „daß es gelingt, durch Extraktion mit destilliertem Wasser und physiologischer Kochsalzlösung, in einzelnen Fällen auch durch Bouillonzüchtung (Schweinerotlauf) und im Hundekot wirksame Filtrate gegen grampositive Bakterien zu erhalten". Da es ihnen aber nur in beschränktem Maße möglich war, die aus grampositiven Bakterien gewonnenen Lysine in Passagen fortzuzüchten, so halten es die Autoren nicht für ausgeschlossen, daß ihre gegen grampositive Bakterien gerichteten Filtrate nicht mit dem d'Herelleschen „Bakteriophagen" identisch sind.

Uns gelang es dagegen leicht, unter Benutzung der gebräuchlichen Technik, aus dem Kot des Schweines 1383 das fortzüchtbare lytische Agens gegen Rotlaufbakterien zu erhalten. Der Tierkörper scheint also bei der Entstehung des lytischen Agens eine gewisse Rolle zu spielen. Schon das primäre Kotbouillonfiltrat zeigte sowohl im Bouillon- wie im Plattenkulturversuch eine deutliche lytische Wirkung. Die bei Ausführung der Versuche benutzte Technik war folgende:

Bouillonkulturversuch.

Aus dem Dickdarm- und Dünndarminhalt des Schweines 1383, in dem mikroskopisch zahlreiche Rotlaufbakterien nachgewiesen werden konnten, wurden Bouillonkulturen angelegt und nach 48stünd. Aufenthalt im Brutschrank durch Silberschmidt-Filterkerzen filtriert. Unerhitztes sowie eine Viertelstunde auf 58° erhitztes Filtrat wurde frisch angelegten Rotlaufbouillonkulturen (6 ccm p_H 7,6) des gleichzeitig aus dem Schwein isolierten Rotlaufstammes 1383 in abgestuften Mengen von 1 ccm bis zu 1 Oese hinzugesetzt und im Brutschrank gehalten. Bouillonkulturröhrchen ohne Filtratzusatz dienten zur Kontrolle. Nach 16stünd. Brutschrankaufenthalt war das Ergebnis stets so, daß in allen mit Filtrat versetzten Röhrchen ohne Unterschied der Filtratabstufung kein Wachstum festgestellt werden konnte, während die Kontrollröhrchen gleichmäßig durch Rotlaufbakterienwachstum getrübt waren. Die lytische Wirkung des Filtrates wurde dadurch bewiesen, daß es gelang, 24stünd. stark getrübte Bouillonkultur durch Filtratzusatz und nach folgenden Brutschrankaufenthalt zur völligen Klärung zu bringen. Ja selbst ältere Bouillonkulturen mit zopfförmigem Bodensatz lockerten sich durch Filtratzusatz und erhielten ein zerfetztes Aussehen; der Bodenzopf verkleinerte sich und verschwand zuweilen.

Plattenkulturversuch.

Am demonstrativsten konnte die lytische Wirkung des Stuhlfiltrats im Plattenkulturversuch nachgewiesen werden. Hierzu wurden Traubenzuckerpferdeblutagarplatten (2 Proz. Traubenzucker, 12—15 Proz. Pferdeblut) verwandt, die sich für das Wachstum der Rotlaufbakterien als besonders geeignet erwiesen haben. Auf rotem Untergrund traten die grauen Kolonien der Rotlaufbakterien deutlich hervor; somit waren auch Wachstumsabnormitäten leicht zu erkennen. Die Platten

Fig. 1. Einwirkung eines Tropfens Rotlauflysates auf eine Rotlaufplattenkultur.

wurden aus 24stünd. Bouillonkultur mit dem Drigalski-Spatel gleichmäßig beimpft und zentral mit einem Tropfen des Filtrates beschickt. Nach 16stünd. Brutschrankaufenthalt herrschte im Tropfenbereich völlige Sterilität (s. Fig. 1), während die Kontrollplatte gleichmäßig ununterbrochenes Wachstum zeigte.

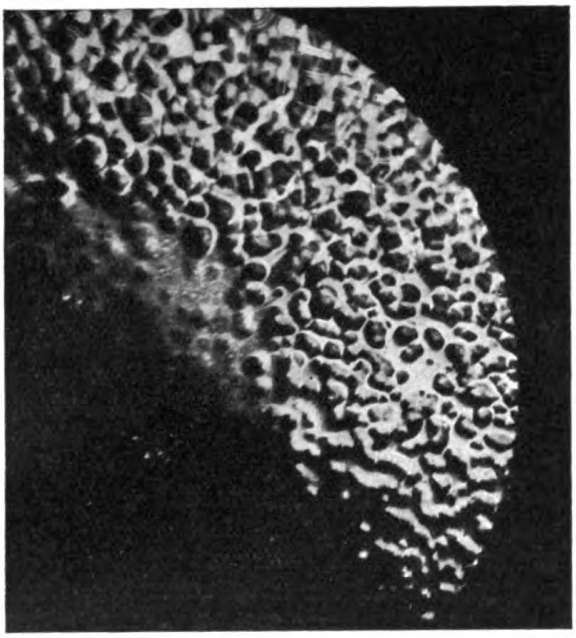


Fig. 2. Randzone im Plattenkulturmikroskope bei künstlicher Beleuchtung.

Auch bei Betrachtung der Nährbodenoberfläche im Plattenkulturmikroskop war im inneren Bereiche des Filtrattropfens überhaupt kein Wachstum festzustellen. In der Randzone lag zwischen normalem Wachstum und Tropfensterilität ein schmaler Saum von aufgelockerten, weniger dichtstehenden, kaum sichtbaren, eingetrocknet aussehenden Kolonien, die sich in ihrer Größe jedoch von den normalen Kolonien der Peripherie nicht unterschieden. Kolonien mit eingefressenen Rändern (Flatterformen Gildemeisters) waren nicht wahrzunehmen; in der Tropfenrandzone fanden sich aber vereinzelte Kolonien, die auf der einen Seite nach dem Tropfen zu eingefallen waren, während sie nach der Randzone zu in normaler Weise aufrecht standen und dort eine glänzende Oberfläche besaßen (Fig. 2).

24 Std. nach Versuchsbeginn angelegte Ueberimpfungen auf Traubenzuckerblutagarplatten aus den im Bouillonkulturversuch geklärten Röhrchen blieben völlig steril. Die Sterilität der Bouillonkultur war aber nur eine scheinbare, wie sich durch längere Beobachtung und durch den weiter unten mitgeteilten Tierversuch (Maus 70, Tabelle 2; Maus 20, Tabelle 3) ergab. Nach mehrtägigem Stehen (4—5 Tage) bei Zimmer- oder Brutschranktemperatur machte sich nämlich in den durch Filtratzusatz klar gebliebenen Röhrchen eine leichte Trübung bemerkbar. Die Trübung blieb stets geringgradig und erreichte niemals die Stärke der Trübung in den Bouillonkulturkontrollen. Im Gegensatz hierzu trübten die lysoresistenten Coli-Paratyphusbakterien die Bouillon in gleicher Weise wie die Kontrollkulturen ohne Filtratzusatz. Bei einzelnen geklärten Rotlaufbouillonkulturen trat aber selbst bei mehrwöchigem Stehen keine Trübung ein. Abimpfungen aus solchen Röhrchen auf Platten blieben entweder steril oder es trat nur ein äußerst spärliches Wachstum zu Beginn des Impfstriches hervor. Durch Filtration der mit Filtrat versetzten und geklärten Bouillonkulturen und nachfolgendem Zusatz dieses Filtrats zu frischen Bouillonkulturen konnte man das lytische Agens unbegrenzt fortzüchten.

Einwirkung des Rotlauflysates 1383 auf andere Rotlaufstämme sowie Paratyphusbakterien, Strepto- und Staphylokokken.

Zwecks Feststellung der Wirkungsbreite des Rotlauflysates 1383 wurde seine lytische Fähigkeit gegenüber zwei aus anderen Schweinen isolierten Rotlaufstämmen (Stamm 133 und Stamm „Ma.") geprüft. Eine deutliche Einwirkung war bei beiden Stämmen sowohl im Bouillonkulturversuch als auch im Plattenkulturversuch festzustellen, jedoch war die Intensität im Vergleich zu derjenigen auf den körpereigenen Stamm 1383 geringer. Die mit Filtrat versetzten Bouillonkulturröhrchen waren nach 24 Stunden Brutschrankaufenthalt völlig klar, es erreichte aber die durch längeres Verweilen im Brutschrank hervorgerufene Trübung nach 48 Stunden bereits einen derartigen Grad, daß eine Unterscheidung von den Kontrollbouillonkulturen nicht mehr möglich war. Im Plattenkulturversuch hob sich bei beiden Stämmen die Tropfenzone von der übrigen Plattenoberfläche deutlich ab, jedoch herrschte im Tropfenbereich nicht völlige Sterilität wie bei Einwirkung des Filtrates 1383 auf den Rotlaufstamm 1383, sondern auch in der Tropfenzone wuchsen spärlich und weit auseinanderstehend einzelne Rotlaufkolonien. Aus der geklärten 24stündigen Rotlaufbouillonkultur mit Drigalskispatel angelegte Plattenkulturen ließen bei Stamm 133 und Stamm „Ma" überall durch verschieden große Lochbildung zerrissenes Wachstum erkennen, während die Plattenkultur aus der entsprechenden Bouillonkultur 1383 völlig steril blieb. In beschränktem Umfange angestellte Versuche, Paratyphusbakterien, Strepto-[1]) und Staphylokokken mit Hilfe des Rotlauflysates 1383 zu lysieren, schlugen fehl. Weder im Bouillon- noch im Plattenkulturversuch war eine Einwirkung auf diese Bakterien festzustellen.

Das Rotlauflysat ist also durchaus artspezifisch; die Wirkungsintensität ist gegenüber dem gleichzeitig aus demselben Tierkörper isolierten Rotlaufstamm 1383 am größten.

Hitzebeständigkeit des Rotlauflysats 1383.

Die Gewinnung keimfreier Filtrate macht insofern Schwierigkeit, als nicht alle als keimfrei filtrierend bezeichnete Filter wirklich keimfreie Filtrate liefern. Um Zufälligkeiten aus dem Wege zu gehen, hat man in die Technik der Herstellung keimfreier bakteriolytischer Filtrate allgemein das Erhitzen des frisch erhaltenen Filtrates auf 58° C während 15—20 Minuten eingeführt. Wenn auch die Abtötungstemperaturen der verschiedenen thermolabilen bakteriophagen Filtrate innerhalb weiter Grenzen schwanken, so ist durch die Anwendung obiger Technik eine Beeinträchtigung etwa in dem Filtrat enthaltener bakteriolytischer Stoffe nach den bisherigen Erfahrungen nicht zu befürchten. Auch das Rotlauflysat 1383 erwies sich von gleicher Wirksamkeit, einerlei ob es unerhitzt oder nach der obigen Technik erhitzt zur Anwendung kam.

Zur Feststellung der Abtötungstemperatur wurde das Filtrat 1383 verschiedenen Temperaturen auf bestimmte Zeiten ausgesetzt und die so erhaltenen Filtratproben in abgestuften Mengen von 0,5 ccm bis zu einer Normalöse im Bouillonkulturversuch auf lytische Fähigkeit

1) Weitere Versuche, durch mehrfache Passagenzüchtung gegen Streptokokken wirksame Lysate zu erhalten, sind im Hyg. Inst. von Meyn angestellt, über die an anderer Stelle berichtet wird.

untersucht. Die Resultate dieser Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Menge des zur Bouillonkultur zugefügten Filtrats 1383	Grad und Dauer der Erhitzung									
	60° 15 Min.	60° 30 Min.	60° 60 Min.	65° 15 Min.	65° 30 Min.	70° 15 Min.	75° 15 Min.	80° 15 Min.	85° 15 Min.	90° 15 Min.
0,5 ccm	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
0,5 ccm	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
1 Normalöse	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
Kontrolle ohne Filtratzusatz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Zeichenerklärung: + = Trübung (Wachstum), — = Klarheit (Sterilität).

Eine 15 Minuten lange Erwärmung auf 75° C bewirkt also eine Abschwächung des lytischen Agens, da Zusatz einer Normalöse des so behandelten Filtrates keine Klärung der Bouillonkultur mehr auszulösen vermag, die jedoch bei Zusatz einer größeren Menge (0,5 ccm) des gleichen Filtrates ausgesprochen in die Erscheinung tritt. Eine Erhitzung auf 80° C bewirkt Abtötung.

Therapeutische Versuche mit Rotlauflysat an mit Rotlauf infizierten Mäusen.

Zu therapeutischen Versuchen fordert das Rotlauflysat dadurch vor allem auf, weil es leicht gelingt, mit Rotlaufbakterien bei Mäusen durch künstliche Infektion eine septikämische Erkrankung zu erzeugen, die innerhalb weniger Tage zum Tode führt. Mit Hilfe entsprechender Versuche an Mäusen mußte es sich also ermöglichen, die Frage der therapeutischen Verwendbarkeit des lytischen Agens im Laboratorium zu entscheiden. Das zu den therapeutischen Versuchen benutzte Filtrat 1383 war aus der 10. Bouillonkulturpassage erhalten. Um sicher zu sein, durch das in der Technik angegebene Erhitzen auf 58° während 15 Minuten nicht etwa irgendwelche therapeutisch wirksamen Stoffe zu zerstören, wurde von einer Erhitzung des Filtrates abgesehen. Die nachgewiesene Keimfreiheit des Filtrates wurde durch dreimaliges Filtrieren durch Silberschmidtkerzen erreicht. Zur Erreichung eindeutiger Versuchsergebnisse wurde von diesem Filtrat der Lysintiter nach der Methode Appelmans bestimmt, d. h. es wurde die Grenzverdünnung des Filtrates mit Bouillon ermittelt, in welcher eingesäte Rotlaufbakterien noch der Lysis anheimfielen. Die dabei benutzte Technik ist folgende: Von dem Filtrat werden Verdünnungen mit steriler Bouillon hergestellt, derart, daß man zu 9 ccm Bouillon, die in einer fortlaufenden Reihe von Reagensgläsern enthalten ist, 1 ccm aus dem vorhergehenden Röhrchen zusetzt, gut durchmischt und dann 1 ccm der Verdünnung in das nächste 9 ccm Bouillon enthaltende Röhrchen überträgt u. s. f. Zur Vermeidung von Fehlerquellen ist für das Anlegen einer jeden Verdünnung eine neue Pipette zu verwenden. Nachdem eine genügende Anzahl von Filtratverdünnungen auf diese Weise angelegt ist, wird jeder Verdünnung eine Oese einer 24stündigen Rotlaufbouillonkultur 1383 zugesetzt, und der Versuch mit entsprechenden Kontrollröhrchen zwecks Feststellung der Sterilität des Filtrates

und des Wachstums der auf obige Weise angelegten Bouillonkultur in den Brutschrank gesetzt. Das Ergebnis kann abgelesen werden, wenn das Rotlaufbouillonkontrollröhrchen durch Rotlaufbakterienwachstum deutlich getrübt ist, was nach 16stündigem Brutschrankaufenthalt stets eingetreten war. Das Röhrchen, bis zu welchem die Bouillon fortlaufend klar geblieben ist, während die folgenden Röhrchen mit höheren Verdünnungen getrübt sind, gibt den Lysattiter an. Im Gegensatz zu Lysatversuchen mit Paratyphus- und Colibakterien waren bei entsprechenden Versuchen mit Rotlaufbakterien Uebergänge zwischen Klarheit und Trübung nicht festzustellen. Der Inhalt der Röhrchen war entweder klar oder gleichmäßig wie die Kontrolle getrübt. Der auf diese Weise ermittelte Titer des Filtrats 1383 betrug 10^{-8}.

Zur Virulenzprüfung des Rotlaufstammes 1883 wurden 3 Mäuse (64, 65 und 66) mit fallenden Mengen einer 24stündigen Rotlaufbouillonkultur 1383 infiziert, und zwar erhielt Maus 64 0,01 ccm, Maus 65 0,005 ccm, Maus 66 0,0025 ccm Kultur subkutan eingespritzt. Die Mäuse 64 und 65 verendeten am 5. Tage, die Maus 66, die die geringste Dosis erhalten hatte, am 4. Tage post infectionem. Für die Immunisierungsversuche wurde darauf eine Infektionsdosis von 0,001 ccm 24stündige Rotlaufbouillonkultur 1383 gewählt. Der Versuchsplan war folgender: 6 Mäuse (68, 69, 71, 72, 73 und 74) wurden prophylaktisch mit 0,5 ccm Filtrat 1383 subkutan vorbehandelt und dann je 2 von ihnen 6 Tage, bzw. 3 Tage, bzw. 1 Tag nach der Vorbehandlung subkutan infiziert. 2 weitere Mäuse (75 und 76) wurden subkutan infiziert und zu gleicher Zeit an einer anderen Körperstelle subkutan mit 0,5 ccm Filtrat behandelt. Als Kontrollen wurden 3 weitere Mäuse (Maus 77, 67 und 70) in den Versuch genommen. Kontrollmaus 77 wurde ohne Behandlung infiziert. Kontrollmaus 67 wurde zur Prüfung der Sterilität des benutzten Filtrates und der Unschädlichkeit ohne Infektion subkutan mit 0,5 ccm Filtrat 1383 behandelt. Kontrollmaus 70 erhielt 0,25 ccm unfiltrierte, durch Filtratzusatz völlig geklärte Rotlaufbouillonkultur subkutan eingespritzt. Von der geklärten Rotlaufbouillonkultur waren vor ihrer Verwendung als Impfstoff Plattenkulturen angelegt. Die Platten blieben steril. Um gleiche Infektionsbedingungen zu schaffen, wurde der Versuch so eingerichtet, daß alle zu infizierenden Tiere am gleichen Tage mit ein und derselben Kultur infiziert werden konnten.

Das Ergebnis der Versuche ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2.

Maus	Subkutane Behandlung	Subkutane Infektion	Ergebnis
Nr. 68	6 Tg. v. d. Infekt.	6 Tg. n. d. Vorbehandl.	† 7 Tg. post infect.
„ 69	6 „ „ „ „	6 „ „ „ „	† 5 „ „ „
„ 71	3 „ „ „ „	3 „ „ „ „	† 5 „ „ „
„ 72	3 „ „ „ „	3 „ „ „ „	† 6 „ „ „
„ 73	1 „ „ „ „	1 „ „ „ „	† 6 „ „ „
„ 74	1 „ „ „ „	1 „ „ „ „	† 6 „ „ „
„ 75	gleichzeitig m. d. Inf.	gleichzeit. m. d. „	† 5 „ „ „
„ 76	„ „ „ „	„ „ „ „	† 6 „ „ „
Kontrolle Nr. 77	—	ohne Behandl. inf.	† 6 „ „ „
Kontrolle Nr. 67	Behandl. ohne Inf.	—	lebt
Kontrolle Nr. 70	0,25 ccm unfilt., durch Filtratzusatz völlig geklärte Rotlaufbouillonkultur	—	† 5 Tg. n. d. Behandl.

Die einmalige prophylaktische oder gleichzeitige subkutane Injektion von keimfreiem Rotlauflysat (Titer 10^{-8}) übt bei Mäusen weder einen günstigen noch einen schädigenden Einfluß auf die künstliche subkutane Rotlaufinfektion aus. Der Tod trat sowohl bei der unbehandelt infizierten Kontrollmaus als bei allen behandelten und infizierten Mäusen am 5.—7. Tage nach der Infektion ein. Mikroskopisch und kulturell waren gleichmäßig bei allen infizierten Tieren Rotlaufbakterien nachzuweisen. Die subkutane Applikation von keimfreiem Rotlauflysat allein in der Menge von 0,5 ccm ruft bei der Maus (Kontrollmaus 67) keinerlei Störung im Allgemeinbefinden hervor. Die subkutane Einspritzung von durch Filtratzusatz völlig geklärter Bouillonkultur, deren Keimfreiheit nach dem negativen Ausfall des Plattenkulturversuches anzunehmen war, verursacht den Tod der Maus (Kontrollmaus 70) infolge Rotlaufseptikämie.

Trotz des negativen Ausfalls der Tierversuche wurde ein zweiter Mäuseversuch unter Vergrößerung der Filtratdosis und Verlängerung der Zeit zwischen prophylaktischer Filtratbehandlung und Infektion angesetzt. Sind nämlich im Filtrat gemäß der d'Hérelleschen Auffassung außer dem lytischen Agens auch bakterielle Antigene enthalten, so sollte ihnen durch den längeren Aufenthalt im Tierkörper Gelegenheit gegeben werden, die Bildung spezifischer Antikörper zu veranlassen. Auf Grund dieser Ueberlegung gestaltete sich der Versuch folgendermaßen:

6 Mäuse wurden subkutan mit 1 ccm Filtrat 1383 vorbehandelt und je zwei von ihnen 14 Tage später (Maus 21 und 22), bzw. 8 Tage später (Maus 27 und 28), bzw. gleichzeitig (Maus 31 und 32) mit 0,001 ccm 24stündiger Bouillonkultur 1383 infiziert. Hinzu kam noch eine aus dem vorherigen Versuch überlebende Maus (Nr. 67), die allein mit 0,5 ccm keimfreiem Filtrat behandelt war. Bei der nun folgenden Infektion, die ohne neuerliche Behandlung vorgenommen wurde, lag die erste Filtratbehandlung drei Monate zurück. Der Versuch war wiederum so angesetzt, daß die Infektion bei allen Tieren an einem Tage mit der gleichen Rotlaufkultur ausgeführt werden konnte. Infektion und Behandlung erfolgten stets an verschiedener Körperstellen getrennt. Das zur Behandlung benutzte keimfreie Filtrat war erhalten aus einer 24stündigen stark gewachsenen Bouillonkultur, die durch darauffolgenden Filtratzusatz zur völligen Aufklärung gebracht war und nach der Aufklärung auf der mit Hilfe des Drigalskispatels beschickten Platte kein Wachstum mehr gezeigt hatte, und aus einer geklärten Bouillonkultur, die nach oben beschriebener Technik beimpft und zwecks Lysis gleichzeitig mit dem lytischen Agens versetzt war. Es war also anzunehmen, daß dieses Filtrat, wenn überhaupt bakterielle antigene Stoffe in lytischen Filtraten vorhanden sind, solche Stoffe enthielt. Der Titer des Filtrates betrug wiederum 10^{-8}. Zur Kontrolle wurde 1 Maus (Nr. 32) ohne Behandlung infiziert und 1 Maus (Nr. 34) erhielt ohne Infektion 1 ccm des zur Behandlung der übrigen Mäuse benutzten Filtrates subkutan eingespritzt. Weiterhin wurde einer Maus (Nr. 20) 0,5 ccm der zur Herstellung des Filtrates benutzten völlig geklärten, unfiltrierten, im Plattenversuch sterilen Rotlaufbouillonkultur (Filtratzusatz zur 24 Stunden alten Kultur) subkutan appliziert. Tabelle 3 ergibt den Gang und das Ergebnis der Versuche.

Tabelle 3.

Maus	Subkutane Behandlung	Subkutane Infektion	Ergebnis
Nr. 67	3 Monate v. d. Inf.	3 Monate n. d. Behandl.	† 3 Tg. post. infect.
„ 21	14 Tage „ „ „	14 Tage „ „ „	† 3 „ „ „
„ 22	14 „ „ „ „	14 „ „ „ „	† 3 „ „ „
„ 27	8 „ „ „ „	8 „ „ „ „	† 3 „ „ „
„ 28	8 „ „ „ „	8 „ „ „ „	† 4 „ „ „
„ 31	gleichzeit. m. d. „	gleichz. m. d. „	† 4 „ „ „
„ 32	„ „ „ „	„ „ „ „	† 5 „ „ „
Kontrolle Nr. 33	—	ohne Behandl. inf.	† 5 „ „ „
Kontrolle No. 34	Behandlung ohne Inf.	—	lebt
Kontrolle Nr. 20	0,5 ccm unfilt., durch Filtratzusatz völlig geklärte Rotlaufbouillonkultur	—	† 5 Tg. n. d. Behandl.

Die prophylaktische oder gleichzeitige (subkutane) Injektion von keimfreiem Rotlauflysat blieb also auch in diesem Versuch bei Mäusen ohne Einfluß auf die subkutane Rotlaufinfektion. Alle behandelten Mäuse gingen ebenso wie die unbehandelte Kontrollmaus (Nr. 33) 3—5 Tage post infectionem septikämisch an Rotlauf zugrunde. Die subkutane Applikation des keimfreien lytischen Filtrates allein verursachte selbst in der erhöhten Menge von 1 ccm bei der Maus (Nr. 34) keine Gesundheitsstörungen. Die subkutane Einspritzung geklärter, im Plattenversuch sich steril erweisender unfiltrierter Bouillonkultur bewirkte wiederum den Tod der Maus (Nr. 20) infolge Rotlaufseptikämie.

Nachweis des lytischen Agens im Körper der behandelten Mäuse nach dem Tode.

Um festzustellen, ob beim Tode der Mäuse das lytische Agens im Körper noch enthalten war, wurden aus dem Herzblut und dem Darminhalte der im letzten Versuch (Tabelle 3) eingegangenen Mäuse Bouillonkulturen angelegt, die nach 24stünd. Bebrütung durch Silberschmidt-Filter filtriert wurden. Das keimfreie Filtrat wurde darauf durch Einwirkung auf den Rotlaufstamm 1383 auf seine Lysierfähigkeit im Bouillon- und Plattenkulturversuch untersucht. In keiner Maus, die behandelt und infiziert war, konnte nach dem Tode das lytische Agens nachgewiesen werden. Nur die Maus Nr. 20, die infolge der Applikation von 0,5 ccm unfiltrierter geklärter Rotlaufbouillonkultur verendet war, beherbergte sowohl im Blute wie im Darminhalte das lytische Agens in unverminderter Stärke (Titer 10^{-8}).

Der Befund der Maus 20 ist in vieler Beziehung derart interessant, daß im folgenden näher darauf eingegangen werden soll.

Maus 20 ging unter starker Conjunctivitis 5 Tage nach der Injektion von unfiltrierter geklärter Rotlaufbouillonkultur an septikämischem Rotlauf ein. Im Milzausstrich wurden mikroskopisch zahlreich Rotlaufbakterien nachgewiesen. So weit bot der Befund nichts Abnormes. Die Bouillonkultur aus dem Herzblut blieb aber steril und zeigte selbst nach mehrtägiger Bebrütung kein Wachstum; die Kultur auf Schrägagar aus Herzblut ging dagegen an (tautropfenförmige Kolonien). Von der 5 Tage alten Schrägagarkultur wurden Ueberimpfungen in Bouillon und auf Schrägagar vorgenommen ,jedoch war jetzt weder

auf Agar noch in Bouillon Wachstum zu erzielen. Die aus der bebrüteten Herzblutbouillon und der Darminhaltbouillon angefertigten Filtrate zeigten stark ausgeprägte lytische Wirkung auf den Ausgangsrotlaufstamm 1383 sowohl im Plattenkultur- als auch im Bouillonkulturversuch. Der Titer des Filtrats betrug 10^{-8}.

Wie ist das Ergebnis dieser Versuche zu erklären? Im Tierkörper werden die Bakterien anscheinend durch Kolloidstoffe vor der Wirkung des lytischen Agens geschützt, ähnlich wie das in Gelatine und Agar geschieht. Die Bakterien können sich infolgedessen im Körper ungehindert entwickeln — im Versuch erliegen sämtliche infizierten und behandelten Mäuse der Infektion. Werden lytisches Agens und Bakterien getrennt dem Körper einverleibt, so kann das lytische Agens an die durch Kolloide geschützten Bakterien nicht herangekommen, und es wird, wie das Otto, Appelmans, Werthemann u. a. bereits nachgewiesen haben und wie wir weiter unten durch Kaninchenversuche bestätigen können, wie ein artfremdes Protein innerhalb weniger Tage ausgeschieden; — im Versuch gelang es bei keiner der behandelten und infizierten Mäuse, das lytische Agens nach dem Tode nachzuweisen. Werden aber lytisches Agens und lysierte Bakterien zusammen in den Tierkörper eingespritzt, so vermag sich das lytische Agens, anscheinend an den Bakterien haftend, im Körper zu halten, jedoch können sich die Bakterien unter dem Schutz von Kolloiden der Wirkung des lytischen Agens entziehen, sich vermehren und ihre deletäre Wirkung entfalten. Hört der Kolloidschutz auf, d. h. werden die Bakterien aus dem Tierkörper auf künstlichen Nährboden (Agar-Bouillon) zur Ansiedlung gebracht, so fallen die Bakterien schutzlos dem lytischen Agens wieder anheim, wie die Versuche an Maus 70, Tabelle 2, und an Maus 20, Tabelle 3, lehren. In dem Kulturversuch aus Maus 20 bestätigte sich auch die lysinhemmende Wirkung des Agars: während die aus dem Herzblut der verendeten Maus 20 angelegte Bouillonkultur infolge ungehinderter Lysinwirkung jedes Bakterienwachstum vermissen läßt, so erscheinen auf Agar bei der primären Herzblutkultur Rotlaufkolonien, und erst bei der sekundären Kultur fehlt jedes Wachstum.

Nach dem Ausgang dieser Versuche sind also d'Herelleschen übertragbaren lytischen Filtraten weder heilende noch immunisierende Fähigkeiten zuzusprechen. Irgendwelche Stützpunkte für die d'Herellesche Immunisierungsmethode sind nicht ermittelt.

Verhalten des Rotlauflysates in der Blutbahn von Kaninchen.

Ueber das Verhalten von Lysinen in der Blutbahn sind von Werthemann umfassende Versuche an Kaninchen, Meerschweinchen und Fröschen angestellt. Werthemann benutzte für seine Versuche ein hochwirksames Colilysin. Das vorher austitrierte Lysin wurde den Tieren intravenös injiziert und dann von ihnen in verschiedenen Zeitabschnitten Blutproben entnommen, die bei Beobachtung bestimmter Mengenverhältnisse im Bouillonkulturversuch auf Lysingehalt untersucht und ausgewertet wurden. Aus diesen Versuchen ergab sich, daß das Colilysin nach den für kolloidal gelöste Eiweißkörper ermittelten Gesetzen aus der Blutbahn verschwindet und beim Kaninchen bis zum 5. Tage nach der Einspritzung in die Blutbahn im Blute nachgewiesen werden kann. Eine Vermehrung des durch längeren Aufenthalt

in der Blutbahn bereits verringerten Lysins konnte durch intravenöse Zufuhr von lebenden lysinempfindlichen Colibakterien nicht erreicht werden. Werthemann zieht den Ausgang dieses Versuches als Stütze für die Auffassung heran, daß die Produktion der lytischen Stoffe mit dem Wachstum unter Vermehrung der Bakterien verknüpft ist. Da sich Colibakterien in der Blutbahn des Kaninchens nicht vermehren, soll der Lysinanstieg ausgeblieben sein.

Entsprechende Versuche mit keimfrei filtriertem Rotlauflysat 1383 haben wir an mehreren Kaninchen ausgeführt. Das Rotlauflysat wurde von den Tieren, selbst bei intravenöser Injektion, gut vertragen. Bis 8 ccm Filtrat konnten intravenös injiziert werden, ohne die geringste Reaktion auszulösen. Erst die intravenöse Applikation von 9 ccm verursachte bei einem Kaninchen von 2300 g Gewicht einen Kollaps, dem ein zweitägiges Kranksein unter Futterversagen folgte. 3 Tage nach dem Eingriff war das Tier wieder völlig hergestellt. Die subkutane Einspritzung der gleichen Menge (9 ccm) Lysat bei einem anderen Kaninchen von etwa gleichem Gewicht verursachte keinerlei Gesundheitsstörung.

Zwecks Feststellung der Schnelligkeit der Ausscheidung des intravenös oder subkutan applizierten Rotlauflysates wurde verschiedenen Kaninchen das Lysat (Titer 10^{-8}) in die Ohrvene (bzw. subkutan) injiziert und darauf nach 1, 7, 24, 48, 72 und 96 Std. unter sterilen Kautelen aus der Ohrvene Blut entnommen, das im Verdünnungsversuch auf seinen Lysingehalt austitriert wurde. Da es schwierig war, das Blut in der Menge von 1 ccm aus der Ohrvene mit der Spritze zu aspirieren, ohne daß es bis zur Mischung mit der Bouillon gerann, wurde mit halben Dosen gearbeitet, d. h. 0,5 ccm Blut zu 4,5 ccm Bouillon. Die Versuchsergebnisse sind aus Tabelle 4 ersichtlich.

Tabelle 4.

Kaninchen, Gewicht, Behandlung	Lysintiter nach						
	1 Stunde	7 Std.	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen
Nr. 8 1900 g 2 ccm Lys. iv.	10^{-4}	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-2}	10^{-1}	0
Nr. 12 2250 g 9 ccm Lys. iv.	Kollaps	10^{-4}	krank				
Nr. 13 2200 g 9 ccm Lys. sk	10^{-4}	10^{-1}	—	0			
Nr. 15 1840 g 2 ccm Lys. iv.	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1}	0	
Nr. 16 1700 g 2 ccm Lys. iv.	10^{-4}	10^{-3}	10^{-1}	10^{-1}	0		
Kontrolle Nr. 9 2300 g 2,3 ccm sterile Bouillon iv.	0	0	0	0	0	0	0

Subkutan oder intravenös appliziertes Rotlauflysat wird innerhalb von 2 bis 5 Tagen aus dem Kaninchenkörper ausgeschieden. Subkutan injiziertes Lysat (Kaninchen Nr. 13) ist schon 1 Std. nach der Applikation in der Blutbahn nachzuweisen.

Kaninchen sind zwar für die künstliche Rotlaufinfektion weniger

empfänglich, sie gehen nach subkutaner Injektion nicht immer ein, jedoch erliegen sie der intravenösen Infektion meist innerhalb von 3—6 Tagen. Bei entsprechender Versuchsanordnung mußte es also gelingen, die Rotlaufbakterien in der Blutbahn des Kaninchens zur Vermehrung zu bringen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit des lytischen Agens wäre seine Vermehrung zu erwarten gewesen. Um hierüber Aufschluß zu erhalten, wurde einem intravenös mit Rotlauflysat behandelten Kaninchen die geringe Menge von 0,01 ccm Rotlaufbouillonkultur in die Vene injiziert. Darauf wurde gleichzeitig mit einem nicht infizierten Kontrolltier der Lysintiter des Blutes bestimmt.

Tabelle 5.

Kaninchen, Gewicht Behandlung	Lysintiter nach					Nachweis von Rotlaufbakterien im Blute
	10 Std.	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	4 Tagen	
Nr. 19 1700 g 2,5 ccm Lys. iv. 17 Std. später 0,01 ccm Rotlaufkultur 1383 iv.	10^{-3}	10^{-3}	10^{-2}	0	0	dauernd negativ; Kaninchen bleibt am Leben
Kontrolle Nr. 18 2400 g 2,5 ccm Lys. iv.	10^{-3}	—	10^{-2}	—	—	—

Eine Lysinvermehrung durch geringe Einsaat von Rotlaufbakterien in die Blutbahn des mit keimfreiem Lysat vorbehandelten Kaninchens konnte bei Nichtangehen der Infektion nicht festgestellt werden.

Da die eingespritzte Rotlaufkulturmenge zweifellos zur Infektion zu gering war, wurde der Versuch mit einem anderen Kaninchen unter Vergrößerung der Infektionsdosis bei zweimaliger Applikation wiederholt. Der Gang des Versuches war, wie in Tabelle 6 vermerkt, folgender: Kaninchen Nr. 40, das mit 3 ccm Rotlauflysat 1383 vorbehandelt ist, erhält 1 Tag nach der Vorbehandlung 0,5 ccm einer 24stünd. Rotlaufbouillonkultur 1383 intravenös appliziert. Da das Tier 24 Std. später einen völlig gesunden Eindruck macht, wird wiederum 1 ccm Rotlaufbouillonkultur intravenös eingespritzt. 24 Std. nach der zweiten Infektionsdosis frißt das Tier nicht mehr, im Blute werden Rotlaufbakterien nachgewiesen, 3 Tage darauf geht das Tier septikämisch an Rotlauf ein.

Tabelle 6.

Kaninchen, Gewicht, Behandlung	Lysintiter und Kulturversuch aus dem Blute nach								
	1 Tag	2 Tagen		3 Tagen		4 Tagen		5 Tagen	
	Titer	Titer	Kult.	Titer	Kult.	Titer	Kult.	Titer	Kult.
Nr. 40 1600 g 3 ccm Lys. iv. 24 Stunden später 0,5 ccm Rotlaufkultur iv. 48 Stunden später 1 ccm Rotlaufkultur iv.	10^{-3}	10^{-2}	—	0	+	0	+	tot	+

Eine Lysinvermehrung konnte also trotz der tödlichen Infektion durch intravenöse Einspritzung von Rotlaufbakterien nicht festgestellt werden. Auch nach dem Tode war weder aus dem Darminhalt noch aus dem Blute des Kaninchens das lytische Agens wieder zu gewinnen. Die Kultur aus dem Herzblut zeigte ununterbrochenes Rotlaufbakterienwachstum.

Zusammenfassung.

1. Therapeutische Versuche mit Paratyphuslysaten an 67 paratyphuskranken Ferkeln bei ein- bis zweimaliger subkutaner Applikation in der Menge von 1 ccm führten zu keinem offensichtlichen Heilerfolg.

2. Es gelang, aus dem Darminhalte eines an akutem septikämischen Rotlauf eingegangenen Schweines ein für Rotlaufbakterien lytisches Filtrat zu erhalten, das sich in Passagen fortzüchten ließ.

3. Das Filtrat erwies sich in seiner Wirkung als artspezifisch. Die höchste Wirksamkeit entfaltete es gegenüber dem aus dem gleichen Tierkörper isolierten Rotlaufstamm. Paratyphusbakterien, Strepto- und Staphylokokken wurden nicht lysiert.

4. Durch 15 Minuten lange Erwärmung auf 75° C wurde die lytische Wirkung des Filtrates abgeschwächt, 15 Minuten lange Erwärmung auf 80° C vernichtete sie.

5. Die einmalige prophylaktische oder gleichzeitig mit der künstlichen Infektion erfolgte Behandlung mit hochwirksamem lytischen Filtrat (Titer 10^{-2}) blieb bei Mäusen ohne Einfluß auf den Verlauf der künstlichen Rotlaufinfektion. Lytische Stoffe ließen sich nach dem Tode im Körper der Mäuse nicht mehr nachweisen.

6. Die Injektion von unfiltrierter völlig geklärter (lysierter), im Kulturversuch sich steril zeigender Rotlaufbouillonkultur verursachte bei Mäusen den Tod infolge Rotlaufseptikämie, obwohl das lytische Agens sowoh lim Herzblut wie im Darminhalt noch nach dem Tode nachgewiesen werden konnte.

7. Der Ausgang dieser Versuche läßt es wahrscheinlich erscheinen, daß Kolloidstoffe im Körper die Lysinwirkung hemmen.

8. Subkutan oder intravenös appliziertes keimfreies Rotlauflysat wird innerhalb von 2—5 Tagen aus dem Kaninchenkörper ausgeschieden. Subkutan injiziertes Lysin ist schon 1 Stunde nach der Applikation in der Blutbahn des Kaninchens nachzuweisen.

9. Eine Lysinvermehrung in der Blutbahn des Kaninchens wurde trotz künstlich hervorgerufener Rotlaufseptikämie nicht festgestellt.

Literatur.

v. Angerer, Beiträge zum Bakteriophagenproblem. Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1924. S. 312. — Appelmans, Quelques applications de la méthode de dosage du bactériophage. C. r. Soc. de Biol. T. 86. 1922. p. 508. — Beckerich u. Haduroy, Le bactériophage de d'Hérelle: Ses applications thérapeutiques. Journ. of bact. 1923. p. 163. — Bruynoghe et Maisin, Au sujet de la réaction consécutive à l'injection du bactériophage. C. r. Soc. de Biol. T. 86. 1922. p. 292. — Borchardt, Biologische Untersuchungen über die Natur des d'Herelleschen

Phänomens. Kl. W. 1923. S. 295. — Bürgers u. Bachmann Bakteriophagenstudien. Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 101. 1924. S. 350. — Davison, Observations on the properties of bacteriolysants (d'Hérelles phenomen bacteriophage, bacteriolytic agens etc.). Part I. Journ. of Bact. 1922. p. 478. — Doerr u. Grüninger, Experimentelle Untersuchungen über die Beziehungen von Bakterien und Bakteriophagen (übertragbaren Lysinen) zur Galle. Schweizer medizin. Wochenschr. 1922. S. 761. — Eichhoff, Ist das d'Herellesche Phänomen von Bedeutung für die Chirurgie? Arch. f. kl. Chirurgie. 1922. S. 112. — Gratia, La lyse transmissible du staphylocoque. La production, ses applications thérapeutiques. C. r. Soc. de Biolog. T. 86. 1922. p. 276. — Gratia et Jaumain, Au sujet des réactions consécutives aux injections de principe lytique staphylococcique. C. r. Soc. de Biol. T. 86. 1922. p. 519. — d'Herelle, Le bactériophage. Son rôle dans l'immunité. Presse médicale. 1921. p. 463. — Jötten, Ueber das sog. d'Herellesche Phänomen. Dtsch. med. Woch. 1921. S. 103. — Marcuse, Grundlagen und Aufgaben der Lysintherapie (d'Herelles Bakteriophagen). Dtsch. med. Woch. 1924. S. 334. — Metalnikow, zitiert nach Marcuse, Grundlagen und Aufgaben der Lysintherapie (d'Herelles Bakteriophagen). Dtsch. med. Woch. 1924. S. 334. — Mießner u. Baars, Bakteriolysate und das Phänomen von d'Herelle. D. t. W. 1922. S. 207. — Otto u. Munter, Zum d'Herelleschen Phänomen. Dtsch. med. Woch. 1921. S. 1579. — Otto, Munter u. Winkler, Beiträge zum d'Herelleschen Phänomen. Ztschr. f. Hyg. Bd. 96. 1922. S. 118. — Piorkowski, Beitrag zur Streptokokkenfrage. Anwendung des d'Herelleschen Phänomens auf Streptokokken. Med. Klinik. 1922. S. 474. — Prausnitz, Ueber die Natur des d'Herelleschen Phänomens. Kl. Woch. 1922. S. 1639. — Seiffert, W., Das d'Herellesche Phänomen. Med. Kl. 1922. S. 997. — Werthemann, Das Verhalten der übertragbaren Lysine (Bakteriophagen) in der Zirkulation von Kalt- und Warmblütern Archiv f. Hyg. 1922. Bd. 91. S. 255.

---

10. Vortrag. Carl Prausnitz und Edith Firle (Greifswald)[1]:

Neuere Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen.

(Mit 1 Abbildung im Text.)

Die schwierige Frage nach der Natur des Bakteriophagen ist noch nicht endgültig geklärt. Vier einander widersprechende Auffassungen ringen miteinander, und andauernd werden für jede von ihnen neue Beweisgründe vorgebracht. Der Zweck unserer Ausführungen ist, einige dieser Gründe kritisch zu beleuchten und neuere eigene Beiträge mitzuteilen, obwohl wir uns klar darüber sind, daß auch durch sie das Problem noch nicht entschieden ist. Schematisch seien die wichtigsten Bakteriophagentheorien wie folgt zusammengefaßt:

1) d'Herelle: der Bakteriophage ist ein lebendes, ultravisibles Virus;

2) Bail: er besteht aus Splittern der lysierten Bakterien;

3) Kabéshima: er ist ein autolysierendes Ferment der Bakterien; diese Auffassung ist in geistvoller Weise von Doerr dahin erweitert worden, daß der Bakteriophage wie ein Wuchshormon auf die Bakterien wirkte, in kleinen Mengen sie stimulierte, in großen zerstörte;

4) Bordet und Ciuca: er ist ein von den Körperzellen (Leukozyten) geliefertes lytisches Ferment.

Da das Vorhandensein autolytischer Fermente in den Bakterien durch viele Untersuchungen festgestellt ist, lag von vornherein die Kabéshimasche Auffassung sehr nahe, wonach ein in den Bak-

1) Vortrag gehalten von C. Prausnitz.

terien präformiertes Proferment durch einen von außen hinzutretenden Katalysator aktiviert würde und die Bakterien auflöste; dabei würde der Katalysator wieder frei, könnte weitere Bakterien auflösen, u. s. f. Auf die quantitativen Schwierigkeiten dieser Hypothese hat der eine von uns bereits hingewiesen.

Gründe gegen die Herkunft der Bakteriophagen aus den Bakterien.

Als ein Beweis für die obige Anschauung wurden u. a. die Beobachtungen von Gildemeister, Otto u. a. angeführt, daß man zuweilen Bakteriophagen aus alten Laboratoriumskulturen von Bakterien gewinnen kann. Größere Wahrscheinlichkeit kommt jedoch der Erklärung d'Herelles zu, wonach diese Kulturen von vornherein Bakteriophagen neben Bakterien enthalten hätten, und die beiden dauernd nebeneinander fortgezüchtet wären. Flu fand unter 13 alten Laboratoriumskulturen von Y-Ruhr nur eine lysinhaltige; aus dieser gelang durch mehrfach wiederholte Abimpfung einzelner Kolonien die „Ultrareinzüchtung" von nicht mehr lysogenen Kulturen, die sich wie normale Y-Stämme verhielten und auch nicht lysoresistent waren. Reichert gelang die Gewinnung von Lysin aus alten Colikulturen nur bei 2 Stämmen, die schon durch die Bildung von Flatterformen aufgefallen waren. Will man zur Erklärung der Ergebnisse von Flu nicht die etwas gezwungene Hilfshypothese aufstellen, daß seine Ausgangskultur aus einem Gemisch lysinhaltiger und lysinfreier Bakterien bestand, oder daß das Proferment von einem Teile der Bakterien durch einen Katalysator aktivierbar war, von einem andern Teil nicht, so bleibt als naheliegende Erklärung nur die Annahme, daß Bakterien + Bakteriophagen auf der Kultur nebeneinander bestanden hatten, d. h. daß sie seit Jahren auf der Kultur gemeinsam fortgezüchtet waren, also sich getrennt fortgepflanzt hatten, wie es bei verunreinigten Kulturen oft genug beobachtet wird.

Jötten hat eine Reihe von Schädigungen der Bakterien beschrieben, die zur Bildung übertragbarer Lysine führen sollen, wie Nährstoffmangel in zu dicht beimpften Kulturen, Einwirkung von Trypsin; uns und anderen Untersuchern ist eine Wiederholung dieser Versuche nicht gelungen, vielleicht weil wir keine geeigneten Bedingungen anwendeten; doch wäre mit Rücksicht auf die Herkunft des Trypsins an die Möglichkeit zu denken, daß es schon von vornherein Bakteriophagen enthalten hätte. Hierfür sprechen besonders die jüngsten Untersuchungen von W. Keller[1]).

Als eine Schädigung der Bakterien, die besonders geeignet sein müßte, Bakteriophagen entstehen zu lassen, wenn sie aus dem Bakterium stammten, erschien die spezifische Bakteriolyse im Pfeifferschen Versuch. Im Greifswalder Institut hat auf Veranlassung des einen von uns (C. P.) Dr. Gertrud Meißner solche Untersuchungen mit Choleravibrionen ausgeführt. Diese Bakterien wurden gewählt, weil sie einerseits besonders leicht der Bakteriolyse in der Meerschweinbauchhöhle erliegen, andererseits Bakteriophagen gegen sie nur ganz ausnahmsweise gefunden worden waren. Nachdem ihre Bemühungen in einer Anzahl von Fällen erfolgreich gewesen waren, zeigte sie in Kontrolluntersuchungen, daß (in 3 Fällen unter 4) auch

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 103. 1924. S. 177.

in der Bauchhöhle normaler, unvorbehandelter Meerschweinchen nach intraperitonealer Einspritzung steriler Bouillon Bakteriophagen gegen Choleravibrionen vorkommen können; sie waren, wie es scheint, nicht etwa „übergreifende" Bakteriophagen, sondern sie griffen nur Cholera- und El-Torvibrionen an, nicht aber Flexner-, Shiga-, Y-, Paratyphus-Bazillen und Staphylokokken. In diesen Fällen konnte also der Bakteriophage nicht aus den Bakterien, sondern nur aus dem Tier stammen; die Beobachtung ist um so bedeutungsvoller, als sie bei Tieren gemacht wurde, die normalerweise nicht mit dem betreffenden Bakterium in Berührung kommen konnten, Ob eine Erklärung hierfür in der Herkunft der Tiere aus Indien zu suchen ist, wo nach den bekannten Untersuchungen Hankins Cholerabakteriophagen im Flußwasser häufig vorzukommen scheinen, und diese Bakteriophagen sich im Darm der Tiere von Generation zu Generation fortgepflanzt hätten, sei dahingestellt. Man wird jedenfalls aus den noch vereinzelten Beobachtungen nicht verallgemeinern dürfen, doch würden sie im Fall weiterer Bestätigung mit großer Wahrscheinlichkeit für die Herkunft des Bakteriophagen aus dem Tier, und nicht aus dem Bakterium sprechen. Gegen die strukturelle Einheitlichkeit der Bakteriophagen und Bakterien spricht ferner noch die von Otto und Winkler, sowie von uns gemachte Beobachtung, daß aus einem antibakteriophagen Serum durch Absorption mit den lysierbaren Bakterien die spezifischen antibakteriellen Serumstoffe quantitativ entfernt werden, während die antibakteriophage Wirksamkeit des Serums unvermindert erhalten bleibt.

Resistenz gegen physikalische und chemische Schädigungen.

Weitere Einwände gegen die belebte Natur der Bakteriophagen gründeten sich auf ihre verhältnismäßig hohe Widerstandsfähigkeit gegen chemische und physikalische Schädigungen. Aus ihrer Resistenz gegen Bakteriengifte kann jedoch kein bindender Schluß gezogen werden, da sie gegen manche Desinfektionsmittel, wie Tetralin etwa ebenso, gegen Lysol stärker, gegen Sublimat weniger empfindlich sind als Milzbrandsporen. Auch werden sie nach unseren Untersuchungen durch 1,5 Proz. Formalin (= 0,5 Proz. Formaldehyd) bei Zimmertemperatur in etwa 5 Minuten zerstört:

Tabelle I.

		Wirkungsdauer.	Lochzahl
1 ccm Lysin + 1 ccm Formalin 3%		1 Min.	4
dgl.	dgl.	5 „	1
dgl.	dgl.	10 „	0
dgl.	dgl.	20 „	0
dgl.	+ 1 ccm phys. NaCl	20 „	ca. 8000

Die Bakteriophagen sind daher in ihrer Beeinflußbarkeit durch Antiseptika manchen filtrierbaren Virusarten sehr ähnlich. Andererseits zeigen auch die verschiedenen Fermente eine große Mannigfaltigkeit in ihrem Verhalten gegenüber den verschiedenen Desinfektionsmitteln, auch dem oft genannten Fluornatrium. Diese Ergebnisse sind daher weder für noch gegen die Fermenttheorie verwertbar.

Bedeutungsvoller erschienen zunächst die Angaben von Seiffert und von Olsen und Yasaki, aus denen eine für belebte Wesen schwer vorstellbare Hitzeresistenz, bzw. die Flüchtigkeit der Lysine hervor-

zugehen schien. Seiffert filtrierte eine lysinhaltige Bouillon durch Berkefeld- oder Chamberlandkerzen, erhitzte die Kerzen dann 3 Stunden im Dampftopf auf 100° und filtrierte hiernach eine frische, lysinfreie Bouillon wiederholt durch die Kerzen: schon nach einigen Filtrationen wurde die Bouillon lytisch. Er nahm an, daß die „d'Herellesche Substanz" beim Kochen in eine inaktive Modifikation übergehe, und sieht in ihr weder etwas belebtes, noch ein Ferment, sondern einen Katalysator. Gildemeister und Herzberg konnten die Angaben nicht bestätigen; aber selbst wenn sie sich als richtig herausstellen würden, so brauchten sie die belebte Natur des Bakteriophagen keineswegs auszuschließen, da manche Bakteriensporen selbst 6stündige Erhitzung auf $1^1/_2$ Atm. im Autoklaven überleben.

Im gleichen Zusammenhang sind die Untersuchungen von Olsen und Yasaki über die Flüchtigkeit und Destillierbarkeit der Lysine zu nennen. Sie konnten von Gildemeister und Herzberg, Spät, Borchardt nicht bestätigt werden. Auch Nachprüfungen, die im Greifswalder Institut von Dr. Meißner ausgeführt wurden, ergaben, daß ein Uebergang der Bakteriophagen in das Destillat (Vakuum 0,5 cm Hg, Siedepunkt 48—51°) nur dann stattfindet, wenn bei starkem Schäumen der kochenden Flüssigkeit Tröpfchen in das Destillat mitgerissen werden, nicht aber wenn die Tröpfchen durch einen Schutzschirm zurückgehalten werden. Es sei auch an die Versuche Dolds über den Transport von Bakteriensporen durch Dampf von 100° erinnert. Wir können uns deshalb von der Beweiskraft der Olsenschen Versuchsanordnung nicht überzeugen.

Die Größenordnung der Bakteriophagen.

Ein dritter, schwerwiegender Einwand gegen die belebte Natur gründet sich auf die außerordentliche Kleinheit der die lytische Wirkung bedingenden Teilchen. Wir haben seinerzeit durch Filtration über de Haënsche Membranfilter verschiedener Porengröße ihre Größenordnung annähernd gleich derjenigen des Kollargols (etwa 20 $\mu\mu$) gefunden. v. Angerer hat kürzlich auf Grund optischer Erwägungen (Trübigkeitsbestimmung) berechnet, daß sie kleiner als 30 $\mu\mu$ sein müssen. Sie scheinen danach nur etwas gröber dispers zu sein als einige organisierte Fermente, wie Pepsin, Trypsin, Hefeinvertase; es ist allerdings, wie Jötten mit Recht sagt, durchaus denkbar, daß es auch noch feiner disperse Fermente gibt als diese von uns untersuchten. Jedenfalls sind die Bakteriophagenteilchen erheblich kleiner als die kleinsten bekannten pathogenen Mikroben: B. pneumosintes mißt 150—300 $\mu\mu$, die Erreger der Peripneumonie im gefärbten Präparat etwa 100—200 $\mu\mu$; doch sind sie ungefärbt wesentlich kleiner (feinste Körnchen, die auch durch Chamberland-Kerzen filtrierbar sind); die von Volpino und die von Paschen bei Vakzine und Variola gefundenen, eben noch sichtbaren feinsten Körnchen maßen etwa 200 $\mu\mu$[1]). Dagegen sind in der lysinhaltigen Bouillon im Dunkelfeld keine sicher als organisiert anzusprechenden Gebilde sichtbar. Man muß sich daher fragen, ob Gebilde, die viel kleiner sind als die bisher bekannten kleinsten Mikroorganismen, überhaupt noch belebt sein können.

1) Die von Frosch und Dahmen bei Maul- und Klauenseuche gezüchteten Mikroorganismen scheinen jedoch nicht über 50 $\mu\mu$ groß zu sein und sind im Dunkelfeld nicht sichtbar.

Die Masse eines Teilchens von 20 μμ Durchmesser beträgt (bei einem spez. Gew. = 1) $\frac{4}{3}\pi \cdot 10^{-18}$ g. Nimmt man den Gehalt der Teilchen an Schwefel (ihre belebte Natur vorausgesetzt) etwa gleich demjenigen der Bakterien zu 0,01 Proz. an, so würde 1 Bakteriophagenteilchen $\frac{4}{3}\pi \cdot 10^{-22}$ g Schwefel enthalten. Nimmt man das Gewicht eines S-Atoms zu 10^{-24}g an, so könnte ein Bakteriophagenteilchen nicht mehr als etwa 400 S-Atome, also höchstens ebensoviel Eiweißmoleküle enthalten. Ob bei dieser Größenordnung Lebensvorgänge — Wachstum und Vermehrung — denkbar sind, ist auf Grund unseres heutigen Wissens nicht zu entscheiden, aber auch nicht ohne weiteres zu verneinen.

Die Diffusibilität der Bakteriophagen.

Im Zusammenhang mit der Größenordnung steht die Frage nach der Diffusibilität der Bakteriophagen. Nach Jötten sollen sie durch 1 cm starke Agarsäulen ohne Druck hindurchwandern. Indessen hat v. Angerer auf die Möglichkeit hingewiesen, daß durch feine Spalten des Agars Spuren der Flüssigkeit gelangen könnten, die bei der hohen Wirksamkeit der Substanz noch nachweisbar wären. Doerr u. Zdansky konnten ebenso wie wir keine Passage durch Kollodiumfilter feststellen.

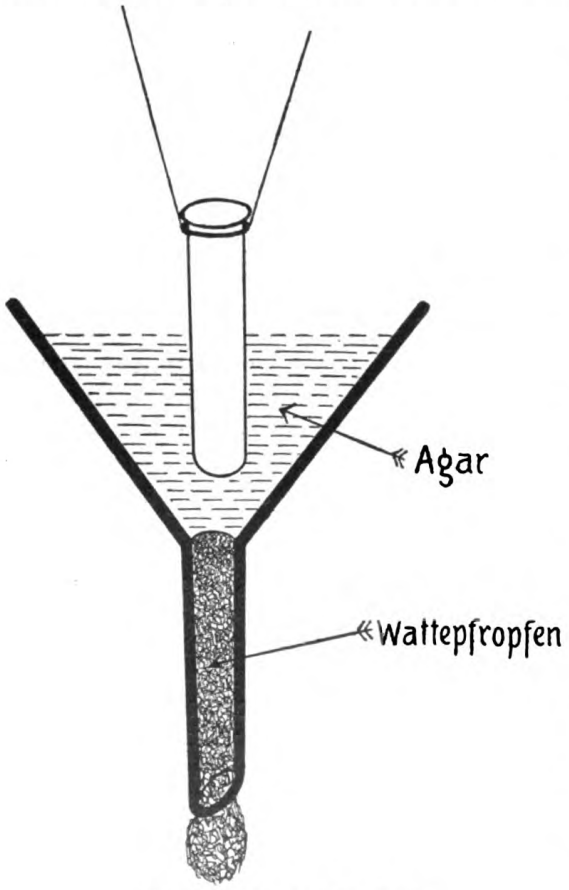


Fig. 1. ½ natürl. Größe.

Wir versuchten, diese Frage experimentell zu klären: a) In einer Reihe wurde verflüssigter 3proz. Nähragar in einen Glastrichter von 7 cm Durchmesser eingefüllt und vor dem Erstarren ein kleines Reagenzglas mit der Kuppe nach unten so weit in den Agar versenkt, daß darunter eine Agarschicht von 1 cm Stärke blieb; in den Stiel des Trichters wurde ein Wattetampon eingeführt, der nach dem Erstarren des Agars herausgezogen wurde, so daß sich der Agar nur im kegelförmigen Teil des Trichters befand; dann wurde das Röhrchen entfernt und in den dadurch entstandenen Agarhohlraum lysinhaltige Bouillon eingefüllt. Die aus dem Trichter abtropfende Flüssigkeit wurde unter Er-

neuerung der Flüssigkeit im Agarhohlraum 2 Tage lang wiederholt auf Lysingehalt untersucht: das Ergebnis war in 2 Versuchen negativ. — b) In einer zweiten Reihe wurden Berkefeld-Liliputkerzen in flüssigem Agar gewälzt, so daß sie einen feinsten Agarüberzug erhielten; dann wurde eine lysinhaltige Bouillon 3—4 Std. lang durch diese Agarfilter bei etwa 26 cm Hg Unterdruck gesogen; das Filtrat war in allen drei Versuchen stets inaktiv.

Daß eine gewisse Fortbewegung des Bakteriophagen oder wenigstens eine örtliche Verbreitung der lytischen Wirkung im Agar stattfindet, scheint aus den Versuchen v. Angerers hervorzugehen, die sich mit unseren Erfahrungen decken. Auch die Erscheinung der „Lochkolonien" ist vielleicht so zu deuten. Aber es fragt sich auf Grund unserer oben beschriebenen Versuche, ob hier wirklich eine Diffusion der Bakteriophagenteilchen stattfindet. Denn auch wenn die Bakteriophagenteilchen belebt wären, könnte ihre bakterienauflösende Tätigkeit, wie wir selbst früher betont haben, letzten Endes doch nur durch eine fermentative Einwirkung erklärt werden, vielleicht analog dem Endotoxin, das auch aus den Bakterien am reichlichsten entsteht, wenn diese üppig wuchern und dabei in großer Zahl der Auflösung verfallen. Daß ein solches Ferment diffundieren kann, ist durchaus verständlich, und hierin wäre dann die Erscheinung der Löcher auf der Agarkultur entsprechend wie die Erscheinung der hämolytischen Höfe in Blutagarkulturen hämolysierender Bakterien erklärbar. Dagegen wäre es kaum wahrscheinlich, daß die Bakteriophagenteilchen selber diffundieren können. Aber selbst wenn der Nachweis ihrer Fortbewegung im Agar gelänge, so würde dies unseres Erachtens ihre belebte Natur nicht unbedingt ausschließen; wir können v. Angerer nicht zustimmen, daß bei Gebilden dieser Größenordnung eine aktive Ortsbewegung undenkbar wäre; vorausgesetzt, daß sie die Fähigkeit des Wachstums und der Vermehrung hätten, wäre auch die Möglichkeit ihrer Ortsbewegung (Geißeln, amöboid oder schraubend-bohrend) nicht a priori abzulehnen.

Zusammenhang zwischen Vermehrung der Bakteriophagen und der Bakterien.

Wohl der wichtigste Beweisgrund für die Fermentnatur der Bakteriophagen ist der fast allgemein erhobene Befund, daß sie in noch so schonend abgetöteten Bakterienkulturen sich nicht vermehren, sondern nur bei optimalem Wachstum der Bakterien, und zwar in einigermaßen bestimmten Beziehungen dazu (Doerr u. Berger, Doerr u. Grüninger). Uns erschien es erwünscht, festzustellen, wie die Vermehrung der Bakteriophagen bei den Temperaturen verläuft, welche die obere Grenze des Wachstums der zugehörigen Bakterien darstellen. 9,9 ccm Bouillon (p_H 7.6) wurden mit eintägiger Flexner-Bazillenkultur und 0,1 ccm einer geeigneten Bakteriophagenverdünnung beimpft und im Wasserbad bei konstanter Temperatur gehalten; zu verschiedenen Zeiten wurden Proben hiervon (a) zur Bakteriophagenzählung mit konstanten Flexner-Bouillonkulturmengen versetzt und auf Agarplatten ausgespatelt (vergl. S. 156); gleichzeitig wurde (b) ein Teil zur Bakterienzählung in Gelatineplatten ausgegossen; die Gelatine ist hierfür geeignet wegen ihrer durch Doerr u. Berger festgestellten hemmenden Wirkung auf Bakteriophagen. Kontrollen wurden mit entsprechenden Mengen Flexner-Bouillonkultur ohne Bakteriophagen be-

1) Digeriert man bei 0° den Bakteriophagen mit lysosensiblen Bazillen und zentrifugiert dann ab, so wird die Lösung unwirksam. Im Parallelversuch mit lysoresistenten Bazillen trat dagegen häufig eine Verstärkung ein gegenüber der ohne Bazillen angesetzten Kontrolle; dies ist auf Grund unserer heutigen Vorstellungen schwer verständlich, zumal bei 0° keine Lyse stattzufinden scheint.

2) Das Verhalten bleibt unverändert, wenn man die Bakterien 1 Std. auf 60, 70, 80, 90 und 100° erhitzt; die Bindungsfähigkeit geht bei 1stünd. Erhitzung auf 120° verloren.

3) Die Bindungsfähigkeit der sensiblen Bakterien für den Bakteriophagen läßt sich auch durch wiederholten Zusatz von frischen Bakteriophagen nur schwer erschöpfen: 1 Oese auf 60° erhitzter Flexnerbazillen wurde 11mal hintereinander mit je 5 ccm neuer Bakteriophagenbouillon je 24 Std. bei 0° digeriert; erst beim 10. Male war eine geringe, beim 11. Male eine etwas größere Abschwächung gegenüber der unbehandelten Kontrolle nachweisbar.

4) Durch Schütteln in Aq. dest. mit nachheriger Filtration, sowie durch Antiforminbehandlung gelang es nicht, aus den Bakterien die den Bakteriophagen bindende Substanz zu entfernen.

Aus diesen Versuchen scheint sich zu ergeben, daß die Bakterienleiber mit spezifischen bindenden Gruppen (Rezeptoren) für den Bakteriophagen ausgestattet sind, und daß die Bindung mit erheblicher Avidität stattfindet. Die Lysoresistenz könnte durch die Annahme erklärt werden, daß die Bakterien unter gewissen Umständen zur Abspaltung dieser Rezeptoren befähigt sind.

Wir müssen Jaumain und Meuleman zustimmen, daß diese Beobachtungen einen sehr gewichtigen Grund gegen die belebte Natur des Bakteriophagen darstellen und vielmehr für seine Fermentnatur sprechen.

Gewöhnungsversuche — Variabilität.

a) Mit antibakteriophagem Serum.

Diesen für die Fermentnatur des Bakteriophagen sprechenden Beobachtungen steht eine Reihe von Befunden, die in erster Linie von uns erhoben wurden, gegenüber, welche u. E. mehr für ihre belebte Natur sprechen. Vor 2 Jahren gelang es uns, aus Gemischen des Bakteriophagen mit seinem spezifischen Antiserum nach häufig wiederholten Passagen einen Stamm zu gewinnen, der durch das Serum nicht mehr beeinflußt wurde. Der Befund ist von Otto und Munter, Borchardt nicht bestätigt, aber von Bruynoghe und Wagemans in ähnlicher Weise wieder erhoben worden. Wir haben seitdem eine sehr große Zahl von Versuchen (1) mit dem Ausgangsstamm A unserer damaligen Versuche und einem neugewonnenen Antiserum, (2) mit dem damals gewonnenen serumfesten Stamm B und seinem spezifischen Antiserum angestellt. Diese Arbeiten haben zwar nicht zur Gewinnung eines absolut serumfesten Stammes geführt; sie haben aber gezeigt, daß bei dieser Behandlung regelmäßig ein Teil der aus den Löchern abgeimpften Bakteriophagen durch das spezifische Antiserum wesentlich schwächer beeinflußt wird als der Kontrollstamm. Wir sahen in allen diesen Versuchen eine bemerkenswerte Variabilität, eine Spaltung in unterempfindliche, mäßig empfindliche und normalempfindliche Stämme.

Die verwendete Technik bestand darin, die Gemische von Bakteriophagen und Antiserum (teils konzentriert, teils mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt) ein oder mehrere Tage im Dunkeln bei Zimmertemperatur zu halten, dann mit geeichter Kapillare je 0,1 ccm fallender Verdünnungen davon in 1 ccm frisch hergestellte Ruhrbazillenaufschwemmung in Bouillon (p^H 7.6) zu übertragen und hiervon je 0,1 ccm auf die Oberfläche einer Agarplatte auszuspateln; die Zählung der Löcher erfolgt nach 1tägiger Bebrütung bei 37°. Entgegen den Einwänden von

Doerr möchten wir dies Verfahren trotz der durch das Ausspateln bedingten Fehler immer noch für das Genaueste halten. Denn bei der Verdünnungsmethode kann das Vorhandensein des Bakteriophagen durch das Wachstum lysoresistenter Keime maskiert werden; da außerdem dies Verfahren praktisch nur in Potenzen von 10 ausführbar ist, so gestattet es eine Abweichung der Resultate um das Zehnfache, je nachdem, ob in der Endverdünnung zufällig noch ein oder kein Bakteriophagenteilchen enthalten ist. Die Plattenaussaat dagegen ergibt Zahlen, die in der Regel für die verschiedenen, in Potenzen von 10 angelegten Verdünnungen miteinander gut übereinstimmen, vgl. S. 160. Um die Adsorption durch den Agar möglichst zu verhindern, ist die Oberflächenaussaat dem Mischverfahren vorzuziehen. Der Fehler des Haftens von Flüssigkeit mit Bakteriophagenteilchen am Spatel wird durch Verwendung gleichmäßig kurzer Stäbe von dünnstem Glas eingeschränkt; er würde zweifellos noch geringer werden, wenn das Material nach dem Bailschen Verfahren mit einem Platindraht über die Plattenoberfläche ausgebreitet würde; doch erfolgt hierbei die Aussaat und daher die Verteilung der Löcher auf der Agaroberfläche nicht ganz so gleichmäßig, was bei großen Lochzahlen wieder zu Ungenauigkeiten führen kann. — Die Abimpfung geschah jeweils aus einer Anzahl von Löchern jeder Platte in einheitlicher Weise: Von einer 1tägigen Flexner-Agarkultur wurde ein Bouillonkölbchen zur leichten Trübigkeit beimpft, gut durchgemischt und davon gleiche Mengen in Reagenzgläser abgefüllt; von je einem Loch wurde mit der kleinen Platinöse in ein solches Röhrchen geimpft. Wenn hierbei Bakteriophagen von verschiedener Resistenz (bzw. Neutralisierbarkeit durch das Serum) auftraten, so konnte dies nach den Versuchsbedingungen kaum durch Variation der Bakterien, sondern wohl nur durch Unterschiede der in den einzelnen Löchern befindlichen Bakteriophagen bedingt sein.

Die Fehlergröße unseres Verfahrens erhellt auch aus der nachfolgenden Tabelle Nr. III: in diesem Versuche wurden von einem Bakteriophagen in 4 parallelen Reihen mit jedesmal frischen Pipetten fallende Verdünnungen hergestellt und von den Verdünnungen 10^{-4} und 10^{-5} je 0,1 ccm in 1 ccm Flexnerbouillon übertragen; von jedem dieser Gemische wurde mit frischer Kapillare 0,1 ccm auf eine ganze Agarplatte ausgespatelt:

Tabelle III.

Reihe Nr.	10^{-4}	10^{-5}
1	57	4
2	60	6
3	53	4
4	65	11

Die nachfolgenden Versuche zeigen einige unserer weiteren Ergebnisse in der Untersuchung auf Serumresistenz. Der erste Versuch zeigt den weniger häufigen Fall, wo alle abgeimpften Löcher Bakteriophagenstämme von etwa gleich hoher, gegenüber der Kontrolle stark vermehrter Serumresistenz aufweisen (Tabelle IV).

Tabelle IV.
Prüfung auf Serumfestigkeit (1).

	Lochzahl		Abschwächung %
	Bakteriophage + Antiserum 1:1000 ana	Bakteriophage + phys. NaCl-Lösung ana	
Bakteriophage A,			
25. Serumpassage Kol. 1	ca. 2500	ca. 3600	ca. 31
dgl. „ 2	62	105	41
dgl. „ 3	ca. 2600	ca. 2600	ca. 0
dgl. „ 4	154	170	9
Bakteriophage A, gleicher Ursprungsstamm, stets in Bouillon fortgeführt	310	ca. 2000	85

Meistens zeigten sich jedoch, zum Teil recht erhebliche, Unterschiede in der Serumresistenz der einzelnen Abimpfungen, vergleiche z. B. Tabelle V.

Tabelle V.
Prüfung auf Serumfestigkeit (2).

	Lochzahl		Abschwächung %
	Bakteriophage + Antiserum 1 : 1000 ana	Bakteriophage + phys. NaCl-Lösung ana	
Bakteriophage B, 15. Serumpassage Kol. 1	83	283	71
dgl. „ 2	52	348	85
dgl. „ 3	184	368	50
Bakteriophage B, gleicher Ursprungsstamm, stets in Bouillon fortgeführt	23	338	93

Es muß aber betont werden, daß eine Erhaltung dieses Grades von Serumresistenz im Laufe unserer über $1^1/_2$ Jahre fortgesetzten Versuche nicht erzielt werden konnte, sondern daß immer wieder neben verhältnismäßig resistenten auch Stämme von normaler Serumempfindlichkeit auftauchten. Auch in den nur auf Bouillon fortgeführten Stämmen traten gewisse Variationen in der Beeinflußbarkeit durch Serum auf, die jedoch meist eine höhere Serumempfindlichkeit aufwiesen als der Durchschnitt der Serumstämme.

b) Gewöhnung an Desinfektionsmittel.

Unsere mit Tetralin ausgeführten Gewöhnungsversuche sind negativ geblieben, dagegen gelang die Anpassung an Phenol verhältnismäßig leicht. Auch hier wurden bei der Abimpfung aus den verschiedenen Löchern einer Platte Stämme erhalten von verschiedener, aber gegenüber der Kontrolle erheblich vermehrter Widerstandsfähigkeit gegen das Mittel, vergleiche Tabelle VI.

Tabelle VI
Phenolresistenz (1).

	Lochzahl (2 Tage bei Zimmertemperatur) Bakteriophage + ana		Abschwächung %
	Phenol 1,5 %	Aq. dest.	
Bakteriophage A, 22. Passage über Phenol Kol. 1	632	768	18
dgl. „ 2	82	554	85
Bakteriophage A, nur in Bouillon fortgeführt	0	578	100

Nicht nur ist die Zahl der nach Phenolbehandlung erhalten gebliebenen Bakteriophagen beim „Phenol-Bakteriophagen“ größer als in der Kontrolle, sondern auch die zur vollkommenen Zerstörung erforderliche Phenolkonzentration ist gegenüber der Kontrolle erhöht (1,9 bzw. 1,5 Proz.), vergleiche Tabelle VII.

Tabelle VII.

Phenolresistenz (2).

Gleiche Teile von Bakteriophagen + fallenden Phenolverdünnungen; Lochzahl nach 1—4 Tagen bei Zimmertemperatur.

Phenolkonzentration %	Bakteriophage A, 33. Phenolpassage			Bakteriophage A, Bouillonpassage		
	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen	nach 1 Tag	nach 2 Tagen	nach 4 Tagen
1,0	.	.	.	∞	ca. 3800	∞
1,1	.		.	∞	ca. 3500	∞
1,2	.	.	.	∞	748	630
1,3	.	.	.	∞	440	218
1,4	.	.	.	32	2	2
1,5	1240	ca. 2000	ca. 2000	3	0	0
1,6	511	484	465			
1,7	232	121	114			
1,8	1	2	11			
1,9	0	0	0			
2,0	0	0	0			

Die Differenzen zwischen den entsprechenden Ergebnissen der einzelnen Tage sind wohl durch kleine Unterschiede in der Nährbodenzusammensetzung zu erklären. An einem Tage wurden selbstverständlich immer nur Agarplatten aus einer Herstellungsnummer verwendet, möglichst gleich dick gegossen und gleich lange vor der Beimpfung getrocknet.

Wesentlich größere Unterschiede wurden mit Sublimat erzielt. Gemische gleicher Teile von Bakteriophagen und Sublimat 1:10000 blieben 1—2 Tage bei Zimmertemperatur im Dunkeln stehen und wurden dann in der beschriebenen Weise auf Agar ausgespatelt. Von den Löchern wurden neue Bakteriophagenstämme abgeimpft; diese und der noch nicht mit Sublimat in Berührung gewesene Bakteriophagenausgangsstamm wurden erneut in gleicher Weise mit Sublimat versetzt u. s.. f. Nach 6 Passagen war bereits ein deutlicher Unterschied festzustellen. Wesentlich günstigere Ergebnisse erhielten wir, als wir anstatt der Abimpfung aus einzelnen Löchern dazu übergingen, die ganzen Platten mit Bouillon abzuschwemmen, und daraus den Bakteriophagen zu gewinnen. Selbstverständlich wurde auch die Kontrollplatte in entsprechender Weise behandelt. (Tabelle VIII.)

Tabelle VIII.

		nach 1-tägiger Sublimatbehandlung	nach 2-tägiger Sublimatbehandlung
Bakteriophage, 9. Sublimatpassage			
dgl.	+ Sublim. 1:10000	ca. 2000	370
	+ phys. NaCl-Lösung	ca. 2000	410
Gleicher Bakteriophage, dauernd in Bouillon fortgeführt			
dgl.	+ Sublimat 1:10000	0	0
	+ phys. NaCl-Lösung	454	174

Weitere Versuche mit ähnlichen Ergebnissen, wenn auch weniger weitgehenden Differenzen zwischen dem angepaßten und dem Kontrollstamm, wurden mit Chloramin-Heyden ausgeführt. Aehnliche Befunde hatte mit der Anpassung an Säuren Asheshov. Immerhin erschien es angesichts der mehrfach betonten Unterschiede zwischen den jeweils abgeimpften einzelnen Bakteriophagenstämmen fraglich, ob diese

Ergebnisse nicht auch erklärbar wären durch das gleichzeitige Vorkommen von 2 oder mehr Teilbakteriophagen in der Ausgangsbouillon, von denen der eine mehr, der andere weniger resistent gegen Serum, bzw. Chemikalien wäre. Um diesem Einwand zu begegnen, hat der eine von uns (C. P.), in dankenswerter Weise unterstützt durch die Technische Assistentin, Fräulein Irmgard Meißner, ähnliche Versuche mit dem bereits erwähnten reinen Teilbakteriophagen „Lauda g" von Bail angestellt. Aber auch hierbei wurde die gleiche Variabilität und in einem Teil der noch nicht abgeschlossenen Versuche bereits eine gewisse Erhöhung der Resistenz gegen Chloramin festgestellt, vergleiche Tabelle IX.

Tabelle IX.
Chloraminresistenz (Bakteriophage Lauda g).

	Verdünnung 1:100 000		Verdünnung 1:1 000 000
	Lochzahl	Prozentsatz des nicht zerstörten Bakteriophagen	Lochzahl
23. Chloraminpassage des Bakteriophagen			
Kol. 1 + Chloramin 1:1000 ana	17	2,7	0
dgl. „ + Chloramin 1:1500 „	23	3,5	3
dgl. „ + Aq. dest. „	660	.	55
dgl. Kol. 2 + Chloramin 1:1000 „	11	1,5	0
dgl. „ + Chloramin 1:1500 „	22	3,0	3
dgl. „ + Aq. dest.	725	.	63
dgl. Kol. 3 + Chloramin 1:1000 „	35	**4,6**	2
dgl. „ + Chloramin 1:1500 „	47	**6,2**	4
dgl. „ + Aq. dest. „	760	.	57
dgl. Kol. 4 + Chloramin 1:1000 „	3	1,6	0
dgl. „ + Chloramin 1:1500 „	7	3,7	1
dgl. „ + Aq. dest. „	187	.	20
dgl. Kol. 5 + Chloramin 1:1000 „	12	1,5	1
dgl. „ + Chloramin 1:1500 „	18	2,3	3
dgl. „ + Aq. dest. „	790	.	84
Gleicher Ursprungstamm, nur in Bouillon fortgeführt + Chloramin 1:1000 „	4	**1,5**	0
dgl. + Chloramin 1:1500 „	25	**2,7**	3
dgl. + Aq. dest. „	910	.	85

Die Tabelle IX zeigt (a) beim Vergleich der Stäbe 2 und 4, mit wie geringen Fehlern unsere Agarausspatelungsmethode arbeitet; die beiden mit 100 000 bzw. 1 000 000 facher Verdünnung ausgeführten Ausspatelungsreihen ergaben mit geringen Abweichungen Zahlen, die sich fast wie 10:1 verhielten. (b) Beim Vergleich der Kolonien 3 und 5 ergibt sich eine Variation zwischen den beiden Stämmen um etwa das 3fache. (c) Bei Vergleich der Kolonie 3 des Chloramin-Passagestammes mit dem in Bouillon fortgeführten Bakteriophagen findet sich eine Steigerung der Chloraminresistenz auf etwa das 3fache.

Der von Otto gegen unsere Gewöhnungsversuche erhobene Einwand, daß auch bei Fermenten nach Ehrenberg und Löwenthal eine gewisse Anpassung an Schädlichkeiten erzielt worden ist, erscheint

freilich sehr beachtlich. Indessen spricht gerade die regelmäßig beobachtete Variabilität der Resistenz der von einer Platte gleichzeitig und unter völlig gleichen Bedingungen abgeimpften Bakteriophagenstämme gegen die Fermenthypothese; denn wenn es sich um eine durch eine chemische Substanz erzeugte Modifikation eines Fermentes handelte, würde es unseren Vorstellungen eher entsprechen, wenn alle von der einen Platte stammenden Fermentabimpfungen die gleiche Resistenz aufwiesen. Die Variabilität aber ist das Charakteristikum der lebenden Wesen.

Wenn wir auch keineswegs die Frage nach dem Wesen des Bakteriophagen auf Grund des vorliegenden Materials für endgültig geklärt ansehen, so will es uns doch scheinen, daß das Gewicht der Beweisgründe mehr für ihre belebte Natur spricht.

Zusammenfassung.

1) Die Angaben Jöttens über die Diffusion des Bakteriophagen in Agar konnten nicht bestätigt werden.

2) Bei 45° findet noch eine geringe Vermehrung der Bakteriophagen, aber keine nachweisbare Vermehrung der Ruhrbazillen statt; immerhin ist es möglich, daß eine dem kulturellen Nachweis entgehende Bazillenvermehrung besteht und die Zunahme der Bakteriophagen bedingt hat.

3) Die Tatsache der Adsorbierbarkeit des Bakteriophagen an elektronegative Kolloide spricht für seine positive Ladung, die also derjenigen der Bakterien entspricht.

4) Die Adsorbierbarkeit durch Kolloide und die spezifische Bindung durch die homologen lysosensiblen Bakterien spricht für die Fermentnatur des Bakteriophagen.

5) Für die Zuverlässigkeit des von uns verwendeten Oberflächenausspatelungsverfahrens werden Beweise vorgebracht.

6) Durch länger fortgesetzte Passagen in antibakteriophagem Serum, sowie in Phenol, Sublimat, und Chloramin können gewisse Modifikationen erzielt werden, die gegenüber diesen Stoffen eine höhere Resistenz zeigen, als die in reiner Bouillon fortgezüchteten Ausgangsstämme. Dasselbe gelang in einer weiteren Versuchsreihe auch mit dem reinen Teilbakteriophagen „Lauda g", so daß sich diese Ergebnisse nicht durch Unreinheit der verwendeten Bakteriophagenstämme erklären lassen.

7) Impft man in diesen Versuchen von einer Platte unter völlig gleichen Bedingungen aus mehreren Löchern ab, so zeigen die daraus gewonnenen Bakteriophagenstämme eine weitgehende Verschiedenheit in ihrer Resistenz gegen Serum, bzw. Chemikalien. Diese Variabilität erscheint als ein gewichtiger Beweisgrund für die belebte Natur des Bakteriophagen.

Die Arbeit ist mit Unterstützung des Ausschusses zur Förderung des wissenschaftlichen medizinischen Nachwuchses (Hilfsausschuß der Rockefeller Foundation) ausgeführt, dem wir auch auf diesem Wege den verbindlichsten Dank aussprechen.

[Aus den Hyg. Instituten der Universität Breslau (Dir.: Geh. Med. Rat Prof. R. Pfeiffer) und der Universität Greifswald (Stellv. Dir.: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Literatur.

v. Angerer, K., Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1924. S. 312. — Asheshov, J. N., C. r. Soc. biol. T. 89. 1923. p. 118, 120. — Bail O., Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 38. 1923. S. 57. — Bail, O., u. Okuda, S., Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1923. S. 251. — Borchardt, W., Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 37. 1923. S. 1; Klin. Woch. 1924. S. 278. — Bruynoghe, R., u. Wagemans, J., C. r. Soc. biol. T. 88. 1923. p. 185, 986. — Doerr, R., Klin. Woch. 1923. S. 909. — Doerr, R., u. Berger, W., Ztschr. f. Hyg. Bd. 97. 1923. S. 422. — Doerr, R., u. Grüninger, W., ebenda. S. 209. — Doerr, R., u. Zdansky, E., ebenda. Bd. 100. S. 79. — Dold, H., dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 558. — Ehrenberg, R., u. Löwenthal, E., Klin. Woch. 1923. S. 81. — Flu, F. C., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 362. — Gildemeister, E., u. Herzberg, K., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 112, 228; Klin. Woch. 1924. S. 186, 278. — Jaumain, D., et Meuleman, M., C. r. Soc. biol. T. 87. 1922. p. 362. — Jötten, K. W., Klin. Woch. 1922. S. 2181. — Meißner, G., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 149; weitere Arbeiten ebenda im Druck. — Olsen, O., u. Yasaki, Y., Klin. Woch. 1923. S. 1879; 1924. S. 278, 279. — Otto, R., u. Munter, H., Ztschr. f. Hyg. Bd. 98. 1922. S. 302. — Otto, R., Munter, H., u. Winkler, W. F., ebenda. Bd. 96. 1922. S. 118. — Otto, R., u. Winkler, W. F., Dtsch. med. Woch. 1922. S. 383. — Reichert, Fr., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 235. — Seiffert, W., Med. Klin. 1923. S. 833. — Spät, W., ebenda. 1924. S. 184. — Wauschkuhn, F., dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 81. 1918. S. 318.

---

11. Vortrag. Sartorius (Leipzig):

Neuartige Lysine bei Mycoidesbakterien.

(Mit 4 Kurven im Text.)

Von großer Wichtigkeit dürften Befunde werden, die wir an gewissen Stämmen der Mycoidesbazillen (Wurzelbazillen) machen konnten. Es handelt sich bekanntlich bei den Wurzelbazillen um harmlose, der Mesentericusgruppe nahestehende Keime, die Sporen bilden und sich nach der Art ihres Wachstums in zwei große Gruppen einteilen lassen. Eine Gruppe von Stämmen zeigt ähnlich dem Mesentericus auf Agar eine schnelle flächenhafte Ausbreitung und bildet an der Bouillonoberfläche ein Häutchen, die andere Gruppe wächst eisblumenartig auf Agar, bildet in der Bouillon feine Flocken, die sich rasch zu Boden senken.

Unter den Stämmen der ersten Gruppe weisen nun einzelne Stämme die merkwürdige Fähigkeit auf, nicht nur eine große Anzahl der verschiedenartigsten pathogenen Keime angreifen und auflösen zu können, sondern auch in kürzester Zeit durch die Lysine, die sie abscheiden, eine komplette Hämolyse herbeizuführen.

Das Merkmal einer solchen Keimlösung, wie sie sonst biologisch kaum so weitgehend erreicht wird, weist schon auf die wichtigen Folgerungen hin, die wir theoretisch wie auch besonders für Vakzine- und allgemeine Reiztherapie daraus gewinnen dürften.

Wir haben die wirksamen häutchenbildenden Stämme mit der Sammelbezeichnung „Mycoides Much-Stämme" bezeichnet, weil von Much ihre wichtigen Eigenschaften zuerst entdeckt wurden. Die wirksamen Stämme sind nach unseren Untersuchungen in nur geringer Anzahl gegenüber nicht wirksamen Stämmen der häutchenbildenden Gruppe vorhanden.

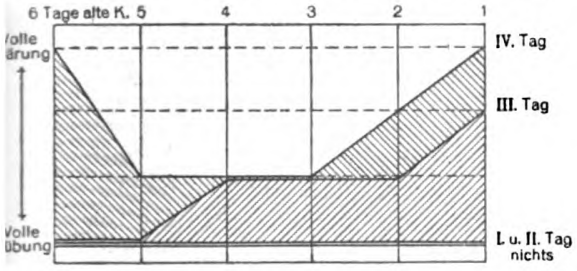
Die Fähigkeit zeigt sich makroskopisch in einer völligen Klärung einer frischen oder älteren Kultur pathogener Keime, sei es nun, daß es sich um Typhus-, Coli-, Flexner-, Proteus-, Staphylokokken- oder andere Keime handelt, deren Kultur mit einem wirksamen Mycoidesstamm beimpft wurde. Die Aufklärung der Bakterientrübung setzt ein, sobald der Mycoides an der Oberfläche der Kultur ein Häutchen gebildet hat, und ist bei schwach wirksamen Stämmen schon in 4 bis 5 Tagen vollständig. Es handelt sich dabei keineswegs um eine Sedimentierung, denn erstens fehlt jeder Bodensatz, und zweitens sind die gleichzeitigen Kontrollen noch voll getrübt. Mikroskopisch sind außer den Mycoidessporen keine Erregerkeime wahrzunehmen.

Ohne auf weitere Erklärungen sich einzulassen, handelt es sich bei der Wirkung sicher nicht nur um rein proteolytische Wirkungen, denn die nicht wirksamen, nicht häutchenbildenden Mycoidesstämme sind proteolytisch bedeutend wirksamer.

Die im therapeutischen Sinne so naheliegende Hochzüchtung wirksamer Stämme auf bestimmte Erregerkeime gelang uns nicht. Wir konnten nur eine zwar außerordentlich unabgestimmte Hochsteigerung der wirksamen Stämme erreichen, sei es nun, daß wir unter optimalen Bedingungen Kulturen nur einer Keimart beimpften, oder ständig die aufzulösende Keimart wechselten.

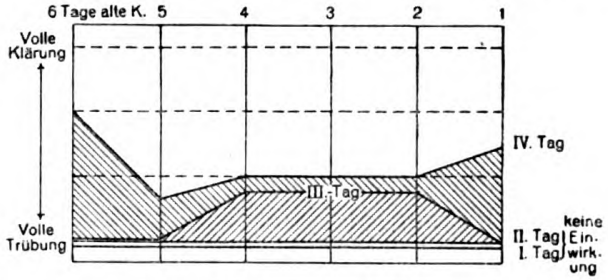
Es lag nahe, die Wechselbeziehungen zwischen Alter und Resistenz verschiedener Kulturen und Wirksamkeit der Mycoidesstämme einer Prüfung zu unterziehen. Das Ergebnis zeigen folgende Kurven, bei denen es sich um die Einwirkung von zwei wirksamen Myc.-

Stamm „M“ 2 auf Typhus- u. Cholerakulturen.

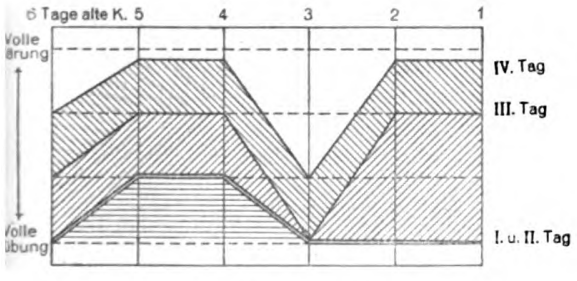


Typhus + M 2.

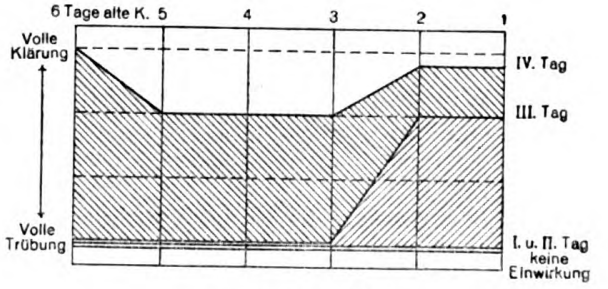
Stamm „M“ 1 auf Typhus- u. Cholerakulturen.



Typhus + M 1.



Cholera + M 2



Cholera + M 1.

Die Vertikalen bedeuten das Alter der Kultur bei der Beimpfung. Die Horizontalen den Grad der Einwirkung (Klärung bzw. Trübung). Die Kurven bedeuten den Stand an den einzelnen Tagen.

Stämmen auf Typhus- und Cholerakulturen verschiedenen Alters handelt. Die Vertikalen bedeuten das Alter der Kultur, die Horizontalen die Trübungsgrade bzw. die Klärung, die eingezeichneten Kurven den Stand an den einzelnen Tagen.

Man sieht ein Resistenzoptimum dieser Bakterien bei Mycoideseinwirkung in den drei- bis fünftägigen Kulturen, außerdem die im ganzen schwächere Einwirkung des Mycoidesstammes I.

Die Annahme, daß es sich bei der Wirkung um ein abgesondertes Lysin handelte, ließ sich bestätigen. Wir stellten fest, daß eine gewisse Menge sterilen Filtrats der geklärten Kultur wieder imstande war, dieselbe Klärung und Auflösung an Kulturen gleicher und anderer Art hervorzubringen. Für einfache Kulturröhrchen benötigt man dazu mindestens 5 ccm hochwertigen Filtrats. Die Hochwertigkeit des Filtrats ist eine Eigenschaft, die nicht nur von der Wirksamkeit und Hochsteigerung, sondern auch von einer Menge anderer Faktoren abhängig ist, von denen hier nur einige angedeutet werden können, z. B. Beschaffenheit und Herkunft der Nährbrühen, der Azidität, der Art des gelösten Keimes.

Die Filtratwirkung ist sicher keine Bakteriophagenwirkung, denn sie läßt sich nur in beschränktem Umfang weitertragen. Es zeigten sich auch sonst bei näherer Untersuchung keine Anhaltspunkte für Bakteriophagen. Vor allem spricht auch das dagegen, daß durch das Filtrat wieder die verschiedenartigsten Keime angegriffen werden und daß der wirksame Mycoidesstamm neu darauf zum Wachstum gebracht werden kann.

Stärkere Eiweißfällungsmittel vernichten die Lysinwirkung. Der Versuch der Ultrafiltration zeigt, daß das Lysin im Rückstand bleibt, was für Adsorption wie für kolloide Beschaffenheit sprechen kann.

Das Lysin ist außerordentlich haltbar und zeigt sich auch nach Erhitzungen bis zu 100° noch deutlich wirksam, was gegen die Fermentnatur neben anderen Faktoren sprechen kann.

Nach der praktischen Seite hin machen uns Tierversuche neben anderen Befunden, auf die hier nicht eingegangen werden soll, auf die außerordentlich wichtige Tatsache aufmerksam, daß die Bakterienklärung die biologisch wirksamen Stoffe der aufgelösten Bakterien in reizauslösender Form behält. Einspritzungen nur kleiner Filtratmengen erzeugte z. B. hochwertige Typhus- oder Proteusagglutinine.

Dies letztere für die Filtrate; für die lebenden Mycoideskeime muß man geltend machen, daß man durch die Verknüpfung von einer Auflösung pathogener Keime mit einer Steigerung durch die gelösten, noch spezifisch reizfähigen Bestandteile in ihnen selbst ein Reizmittel vor sich hat, das Spezifisches und Unspezifisches gemeinsam hat. Wir werden über unsere klinischen Erfahrungen nach Abschluß berichten.

Aussprache zu den Vorträgen 9—11.

Schnürer (Wien) berichtet, daß es auch in seinem Laboratorium Dr. Kundrat gelungen ist, aus der Niere eines rotlaufkranken Schweines ein lytisches Virus gegen Rotlaufbakterien zu gewinnen. Dagegen gelang es nicht, aus den Faeces von Ratten, die sich bei der Fütterung mit Ratinbakterien als immun erwiesen hatten, Bakteriophagen für diese Bakterien zu gewinnen, so daß für diese Fälle die Immunität nicht, wie d'Herelle annimmt, auf der Anwesenheit von Bakteriophagen beruhen kann.

Kraus (Wien): Auf eine Eigenschaft des Bakteriophagen möchte ich die Aufmerksamkeit lenken, nämlich auf die Beeinflussung der termentativen Fähigkeit gewisser Bakterien, wie z. B. Bacterium coli, Dysenteriebazillen usw. Diesbezügliche Versuche habe ich im Brasil Medico mitgeteilt, und außerdem hat Gomez ausführlich darüber berichtet. Es gelang durch Züchtung gewisser Bakterien in Bakteriophagen-Medien ihr Fermentationsvermögen zu ändern. Man kann zu der Vorstellung gelangen, daß vielleicht auch im Organismus die vielen Varietäten des Bacterium coli, Typhus-, Paratyphus-, Dysenteriebazillus unter Einfluß des Bakteriophagen zustande kommen dürtten. Therapeutische Versuche, welche Lehndorff und Porges in Wien gemacht haben, lieferten bisher kein einwandfreies Resultat. Die Frage, ob der Bakteriophage ein lebendes Virus oder Ferment ist, zu welch letzterer Auffassung die Mehrzahl der Forscher neigen, läßt sich bis heute einwandfrei nicht lösen, solange wir nicht eine exakte Reaktion auf lebendes Protoplasma zur Unterscheidung von Fermenten besitzen. Dieses Problem ist außerordentlich wichtig, weil jetzt die Kriterien über filtrierbares Virus schwankend geworden sind, so daß es sich empfehlen würde, vielleicht das Thema Bakteriophag als Referatthema für die nächste Versammlung zu wählen.

K. Herzberg (Dahlem): Ich möchte Ihnen kurz von Untersuchungen berichten, über welche Herr Prof. E. Gildemeister und ich in der letzten Sitzung der Berliner Mikrobiologischen Gesellschaft vorgetragen haben. Bei diesen Versuchen wurden Verhältnisse aufgedeckt, die eine eindeutige Antwort auf die Frage geben, ob die Vermehrung der Bakteriophagen in jeder Phase den Regeln entspricht, die die allgemeine Bakteriologie erhebt, um einen Vorgang als durch ein belebtes Wesen hervorgerufen ansehen zu können oder nicht. Zur Verwendung kam der Spontanlysinstamm Coli 88. Er ist dadurch charakterisiert, daß er in Bouillon regelmäßig Lysine produziert (etwa 30000 Bakteriophagen pro 0,05 ccm innerhalb 24 Std. gegen den Stamm Shiga), die als typische Bakteriophagen anzusprechen sind. Er bedarf keines Bakteriophagenzusatzes, um Lysine entstehen zu lassen, sondern er erzeugt diese aus sich heraus. Dadurch arbeitet man mit einem vereinfachten System und ist in der Lage, die primären Einflüsse, die zur Entstehung der Lysine führen, von Beginn der Kultur an zu verfolgen. Der Zusatz der Bakteriophagenkomponente in der sonst zur Bakteriophagenvermehrung erforderlichen Anordnung: Bakterium + Bakteriophagum fällt hier fort. Der Colistamm bildet keine Flatterformen, ist also gegenüber dem eigenen Lysin resistent. Drei Faktoren wurden variiert, um die Ursache der Bakteriophagenentstehung an diesem Stamme festzustellen. I. Nährböden. Selbst einfachste Nährböden aus Ammoniumlaktat, Monokaliumphosphat, Kochsalz und Bikarbonat oder nur aus Glyzerin und Ammoniumsulphat garantierten bei 37° eine Bakteriophagenproduktion. Die Notwendigkeit einer besonderen Substanz zur Bakteriophagenbildung konnte nicht nachgewiesen werden. II. Temperatur. Bei einer Temperatur von 16° C bildet der Stamm in 24 Std. keine Bakteriophagen, nach dieser Zeit treten sie auf. Eine 10,5°-Kultur bleibt 96—120 Std., eine 8,75—9°-Kultur trotz einer Vermehrung von 10^5 auf 10^9 Keime je Kubikmeter dauernd bakteriophagenfrei. Das Ergebnis ändert sich bei Passagezüchtungen nicht. Es ist also gelungen, eine Spontanlysinkultur durch Züchten bei besonderen Temperaturen bakteriophagensteril zu machen, sie von ihrer „Mischinfektion" mit dem Bakteriophagen zu befreien. Diese Behauptung besteht nur zu Recht, wenn folgende Bedingungen erfüllt sind:

1) Das zum Nachweis der Bakteriophagen dienende Verfahren muß so schonend sein, daß nicht ein einziger Bakteriophage dadurch vernichtet wird.

2) Das Verfahren muß so exakt sein, daß ein einziger Bakteriophage im Reaktionsraum von 10 ccm nachgewiesen werden kann.

3) Es muß mittels des von d'Herelle angegebenen Virulenzsteigerungsversuches nachgewiesen werden, daß keine latenten Formen der Bakteriophagen vorhanden sind.

Diese drei Forderungen sind erfüllt. Die hierdurch erwiesene Bakteriophagenfreiheit der 9°-Kulturen führt unmittelbar zur Frage nach der Natur dieser Substanzen. Ist die These d'Herelles, daß die Bakteriophagen Parasiten sind, richtig, so darf aus diesen 9°-Kulturen kein Bakteriophage mehr zu gewinnen sein. Es wird also zur Entscheidung der Frage Virus oder kein Virus die bakteriologische Grundregel verwendet, daß Materie, die als Erreger angesprochen wird, nach ihrer Entfernung aus dem Kulturmedium in diesem von selbst nicht wieder auftreten darf. Dieser Forderung wird im vorliegenden Fall nicht genügt. Eine bakteriophagensterile 9°-Kultur produziert bei 37° in 30—40 Min. gesetz-

mäßig wieder Bakteriophagen. Da auch eine sog. Latenz der Bakteriophagen in den 9°-Kulturen durch den Aktivitätssteigerungsversuch nach d'Herelle ausgeschaltet werden konnte (dieser Versuch fehlte, um den Angaben von Otto, uns und Bordet über das spontane Auftreten von Lysinen die entscheidende Beurteilung zu geben), so resultiert aus diesem Wiedererscheinen der Bakteriophagen, daß sie keine Parasiten sein können, d'Herelles Hypothese mithin unrichtig ist. Wenn Herr Prof. Prausnitz an der Lebewesennatur auf Grund der Gewöhnungsversuche festhält, so ist darauf zu erwidern, daß die Gewöhnung, zu der man auch noch die Vermehrung der Bakteriophagen und die Assimilation im heterogenen Medium hinzunehmen kann, stets in einem Reaktionsraum vor sich geht, in dem eine lebende und sich vermehrende Komponente, das Bakterium, vorhanden ist. Dadurch wird man außerstande gesetzt, zu erkennen, welchen Anteil der Bakteriophage, welchen die Bakterien an der Gewöhnung, Vermehrung usw. haben. Die Lysine treten bei Erwärmung von 9°-Kulturen maximal nicht bei hohen Keimgehalten auf (500 Millionen Keime je Kubikzentimeter), sondern in Verdünnungen von etwa 20 Millionen je Kubikzentimeter. Selbst die tausendfache Ausgangsverdünnung produziert in 2 Std. noch so viel Lysin wie die konzentrierte Kulturflüssigkeit. Es ist daraus zu schließen, daß auch die Spontanlysinbildung ein Zeichen höchster Aktivität der lebenden Zelle, nicht das Produkt eines Zerfallsprozesses ist. III. Das Verhalten dieses Spontanlysinbildners wurde weiterhin kurvenmäßig in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur untersucht. Es konnte nachgewiesen werden, daß die Lysinvermehrung in erster Linie eine Funktion der Temperatur, nicht der Bakterienvermehrungsgeschwindigkeit ist. Das Temperaturoptimum liegt für Bakterien und Lysine bei 33,5°. Das Maximum ist bei den Lysinen schmal, bei den Bakterien breit. Die Lysinbildungskurve bei konstanter Temperatur weist eine große Aehnlichkeit mit der von Doerr und Grüninger am System Bakterium + Lysin erhobenen Kurve auf, nur steigt die Spontanlysinbildungskurve infolge der fortgesetzten Bakterienvermehrung bis zur 72. Std. an. Die Bildungskurven der Lysine in Abhängigkeit von der Zeit und in Abhängigkeit von der Temperatur sind unseres Erachtens nur Spezialfälle anderer Leistungen des Bakterienorganismus. Sie gestatten über die qualitativen Produktionen des Bakteriums hinaus einen quantitativen Einblick in die Entstehung bestimmter Zellsubstanzen. Ueber die Zugehörigkeit der Lysine (Fermente, Toxine und ähnliches) kann vorläufig nichts ausgesagt werden, da die Reaktionsprodukte der Einwirkung des Lysins auf das Bakterium unbekannt sind. Es läßt sich aber aus der Widerlegung der Hypothese d'Hérelles jetzt als Tatsache hinstellen, daß es bei Einzelligen eine Uebertragung krankhafter Zustände durch unbelebte Materie gibt.

Seiffert (Freiburg i. B.): Zu der Mitteilung des Herrn Professor Prausnitz über die sog. Serumfestigkeit des Bakteriophagen möchte ich darauf hinweisen, daß eine Täuschung durch Mischlysine auch dann möglich ist, wenn das Ausgangslysat einheitlich zusammengesetzt war; es gibt gar nicht so selten Stämme, die verschiedenartige lytische Agentien liefern, und zwar auch dann, wenn ein einheitliches Agens auf sie einwirkt. Im serologischen Bindungsversuch könnte Herr Prausnitz leicht nachweisen, ob sein „serumfester Bakteriophage" der gleichen Spezifizität ist wie sein Ausgangslysat.

Sehr interessant sind die Versuche, von denen Herr Herzberg sprach. Sie fügen sich ohne weiteres in meine Vorstellung über das d'Herellesche Phänomen als einen autolytischen Prozeß ein. Danach wird die Auflösung der Bakterien durch die intrabakteriellen Stoffwechselfermente vollzogen; das d'Herellesche Agens ist lediglich ein Katalysator, der die Fermente übermäßig anregt; gleiche ich die übermäßige Anregung auf anderem Wege, z. B. durch Temperaturerniedrigung, wieder aus, so kommt es natürlich nicht zur Auflösung; andernfalls genügt der angeregten Stoffwechseltätigkeit die aufgenommene Nahrung nicht mehr, und nun wird das Bakterieneiweiß selbst angegriffen. Sobald der Nachweis gelänge, daß der Auflösung der Bakterien tatsächlich eine gesteigerte Stoffwechseltätigkeit vorausgeht, wäre der Kreis, in dem sich meine Arbeitshypothese bewegt, experimentell geschlossen.

Elkeles (Charlottenburg): Therapeutische Versuche mit d'Herelles Lysinen müssen sich nach Möglichkeit an die Bedingungen des Reagenzglasversuchs halten, auf denen unsere Kenntnisse über den Bakteriophagen basieren.

Prausnitz (Schlußwort): Die wichtigen Versuche von Gildemeister und Herzberg scheinen erklärbar durch Latentwerden der Lysine infolge Bindung an die sensiblen Bakterien bei niederer Temperatur, und durch Sprengung der Bindung bei höherer Temperatur. — Gegenüber dem Seiffertschen Einwand wird betont, daß das Bakterienmaterial möglichst einheitlich hergestellt wird; es wäre nach Ansicht des Vortragenden weniger gezwungen, die Variationen auf die Lysine, als die Bakterien zurückzuführen.

---

12. Vortrag. H. Sachs und A. Klopstock (Heidelberg):

Zur Serodiagnostik mittels Ausflockung.

Die Versuche, über die wir Ihnen kurz berichten wollen, und die zum Teil gemeinsam mit Herrn Dr. Ohashi ausgeführt wurden, betreffen im wesentlichen die Serodiagnostik der Syphilis. Wenn uns auch nach unseren eigenen Erfahrungen die Sachs-Georgi-Reaktion in ihren Endergebnissen als eine für die Praxis durchaus brauchbare Methode erscheint, so glaubten wir doch, dem oft erwähnten Umstand Rechnung tragen zu sollen, daß sie erst verhältnismäßig spät abgelesen werden kann. Grundsätzlich wird der darin liegende Nachteil zwar eher überschätzt. Denn die Ergebnisse sind auch bei der S.G.R. bereits nach wenigen Stunden zu beurteilen. Die Frühablesung in der bisherigen Form hat nur den Nachteil, daß unter Umständen unspezifische reversible Frühflockungen eintreten können. Nur aus diesem Grunde haben wir stets Bedenken gehabt, die Frühablesung für die allgemeine Praxis zu empfehlen. Die Häufigkeit der reversiblen Frühflocken wechselt bei den verschiedenen Extrakten. Jedenfalls handelt es sich um ziemliche Seltenheiten; in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle gibt die Ablesung nach 2—3 Stunden einwandfreie Resultate.

Man kann nun die unspezifische Frühflockung durch rasche Extraktverdünnung beseitigen. Es besteht aber dann ein wesentlicher Nachteil, eine zu geringe Empfindlichkeit. Will man daher die Extraktverdünnung rasch herstellen, so sind Verstärker erforderlich; und die Rolle eines derartigen Verstärkers spielt augenscheinlich der Tolubalsam bei Meinickes Trübungsreaktion. Man wird sich das Wesen des Vorgangs wohl in ähnlicher Weise vorzustellen haben, wie bei der von Bordet und Gengou beschriebenen Koagglutination. Syphilitikerserum und Extraktlipoide reagieren in subvisibler Form. Durch die Reaktion wird aber der Tolubalsam mitgerissen, und so entsteht die sichtbare Trübung oder Flockung.

Wir haben daher versucht, die Ausflockungsreaktion zu verstärken und dabei die für die S.G.R. geltenden Bedingungen (Verwendung cholesterinierter Rinderherzextrakte, physiol. Kochsalzlösung als Verdünnungsmedium, inaktiviertes Serum) beibehalten. Das inaktivierte Serum scheint uns in technischer Beziehung kein Nachteil zu sein, zum mindesten, solange man die WaR. zugleich ausführt. Aus den erwähnten Gründen haben wir uns an die rasche Verdünnung gehalten, wobei der Extrakt mittels Pipette rasch in die physiologische Kochsalzlösung hineingeblasen wird. Als Verstärker haben wir Benzoeharz gewählt, das schon französische Forscher (Dujarric de la Rivière und Gallarand) für eine Flockungsreaktion benutzt hatten.

Man darf wohl annehmen, daß das Benzoeharz ein Analogon des Tolubalsams bei Meinickes Trübungsreaktion darstellt. Ein Vorteil der Benzoeharzextrakte erscheint uns darin gelegen, daß ihre Verdünnungen weit weniger von den Temperaturbedingungen abhängig sind als die Balsamextrakte von Meinicke.

Nach umfassenden Versuchsreihen haben wir vorläufig ein Optimum derart erhalten, daß wir einfach die cholesterinierten Rinderherzextrakte, wie sie zur S.G.R. dienen, mit geeigneten Mengen alkoholischer Lösung von Benzoeharz versetzten. Diese mit Benzoeharz verstärkten cholesterinierten Rinderherzextrakte werden rasch 20fach mit physiol. Kochsalzlösung verdünnt. Die Reaktion wird in der Weise angesetzt, daß 0,1 ccm unverdünnten Patientenserums mit 0,5 ccm der Extraktverdünnung gemischt werden [1]). Die Flockung tritt in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle innerhalb weniger Minuten auf, und zwar so intensiv, daß man sie leicht mit bloßem Auge wie eine Agglutination ablesen kann. Es ist das besonders der Fall, wenn man die Gestelle, die die Röhrchen enthalten, 1 Min. lang oder länger schüttelt. Am zweckmäßigsten ist es, die Gestelle 10 Minuten lang im Schüttelapparat schütteln zu lassen. Man kann sofort ablesen, einige schwache positive Reaktionen folgen nach $^1/_2$—1stünd. Brutschrankaufenthalt nach. Nach dem Ansetzen des Versuchs sind die Serum-Extrakt-Gemische stark getrübt, so daß eine Ablesung als Trübungsreaktion nicht in Betracht kommt. Beim Aufenthalt im Brutschrank tritt eine allmähliche Aufhellung ein, die die negativen Sera betrifft.

Die genannten französischen Autoren haben zur Verstärkung mit Benzoeharz die nach Bordet-Ruelens hergestellten Extrakte nach Acetonvorbehandlung benutzt. Wir selbst haben gesehen, daß unter Benutzung dieser Extrakte die Flockung bei weitem langsamer auftrat und die Empfindlichkeit unserer gewöhnlichen cholesterinierten Rinderherzextrakte, die aus feuchten Organen direkt in Alkohol gewonnen werden, nicht erreichen. Dagegen haben uns die Vorteile, die den Bordet-Ruelensschen Extrakten nachgerühmt werden, zu Ueberlegungen Anlaß gegeben, unsere gewöhnlichen Rinderherzextrakte, die ja weit einfacher herzustellen sind, zu verbessern. Da durch die Aceton-Vorextraktion eine relative Anreicherung der Phosphatide in dem späteren Alkoholextrakt erzielt wird, glaubten wir durch einen Lezithinzusatz zu den gewöhnlichen Extrakten vielleicht einen Vorteil erreichen zu können. Es hat sich in der Tat gezeigt, daß geeignete Lecithindosen die mit Benzoeharz versetzten cholesterinierten Rinderherzextrakte in gewisser Hinsicht verbessern. Die Serum-Extraktgemische werden dann leicht aufgehellt, ohne daß, wie es bisher scheint, die Flockungsintensität leidet. Außerdem wird durch den Lezithinzusatz das Benzoeharz leichter in Emulsionszustand gehalten.

Eine leichtere Löslichkeit des Benzoeharzes nach der Verdünnung des Extraktes mit physiol. Kochsalzlösung wird auch durch Cholesterin bewirkt. Das Cholesterin übt derart in den mit Benzoeharz versetzten Extrakten (Benzocholextrakten) eine Doppelfunktion aus. Es beschleunigt einerseits die Reaktion und erhöht andererseits die verwendbare Menge von Benzoeharz.

---

1) Es ist notwendig, die Extraktverdünnung so rasch als möglich nach der Bereitung einzufüllen. Die so benutzbaren Höchstmengen der Extraktverdünnung werden zu ermitteln sein.

Wir haben also in den neu bereiteten Extrakten das Prinzip der Cholesterinierung kombiniert mit den Faktoren, die uns die Erfahrungen Meinickes und der französischen Autoren kennen gelehrt haben. Beim Ansetzen der Reaktion benutzen wir außerdem als beschleunigendes Moment das Schütteln, dessen beschleunigenden Einfluß bereits Hohn und Kahn (Amerika) beschrieben haben.

Was unsere bisherigen Ergebnisse anlangt, so erscheinen die Flocken bei der von uns geübten Methode außerordentlich rasch und intensiv. (Folgt Demonstration.)

Unsere bisherigen diagnostischen Erfahrungen sind ermutigend. Sollte es sich zeigen, wozu weitere Untersuchungen erforderlich sind, daß unsere Extrakte, die wir gern zur weiteren Prüfung abgeben, in Bezug auf Empfindlichkeit und charakteristisches Verhalten sich praktisch eignen, so würde es sich um eine sehr einfache und schnelle Flockungsreaktion handeln.

Auch für die Untersuchung von Lumbalpunktaten scheint die Methode brauchbar zu sein; in dieser Hinsicht sind aber unsere Untersuchungen noch zu wenig zahlreich, um ein Urteil zu ermöglichen.

Die mit Benzoeharz verstärkten cholesterinierten Extrakte eignen sich übrigens auch zu andern Zwecken. So haben Untersuchungen von Frl. Dr Scheyer gezeigt, daß die von W. Georgi beschriebene Flockungsreaktion des Diphtherieserums durch die Verstärkung mit Benzoeharz eine wesentliche Beschleunigung erfährt.

Aussprache.

Meinicke (Ambrock): Es freut mich, daß Sachs auch dazu übergegangen ist, seine Reaktion durch Balsam- bzw. Harzstoffe zu verstärken, wie ich das bei meiner Trübungsreaktion getan habe. Bei der neuen Sachs- und Klopstockschen Reaktion erhebt sich wie bei jeder Syphilisreaktion die Frage nach der Leistungsfähigkeit und Spezifität. In diesem Sinne ist die WaR. kein vollgültiger Maßstab; denn sie wird in den einzelnen Laboratorien ganz verschieden stark eingestellt. So sind in ein und derselben Woche Arbeiten aus dem Sachsschen und dem Elkelesschen Laboratorium über meine Trübungsreaktion erschienen. Die eine hält meine M. T. R. für empfindlicher als die WaR., die andere für schwächer. Der eine Autor glaubt, bei meiner Reaktion mehrfach Unspezifitäten gesehen zu haben; der andere hält solche für ganz außerordentlich selten. Diese Unterschiede lassen sich nur so erklären, daß die WaR., die zum Vergleich diente, ganz verschieden stark eingestellt war.

Elkeles (Berlin): Zur Berichtigung der Diskussionsbemerkung des Herrn Meinicke: Mein Maßstab zur Beurteilung der M. T. R. stützt sich nicht auf die WaR., sondern auf das anamnestisch-klinische Bild und die durch die Kältemethode (Jacobsthal-Graetz) verschärfte Wa-Reaktion.

Sachs (Schlußwort): Ich darf vielleicht darauf hinweisen, daß, soweit mir erinnerlich, die Unterschiede in den Ergebnissen über die M.T.R. zwischen unseren Erfahrungen und denjenigen des Herrn Elkeles nicht so groß sind, wie es scheinen könnte. Wenn ich mich recht erinnere, hat Herr Elkeles nur diejenigen Reaktionen als positiv gewertet, die mit beiden Extrakten positiv waren, während wir, Meinickes Vorschrift entsprechend, auch die nur mit einem Extrakt positiv reagierenden Fälle im Sinne von Trübungsreaktionen aufgefaßt haben. So erklärt es sich wohl, daß Klopstock und Dölter in unserem Institut mehr Unspezifitäten gesehen haben. Es fragt sich nur, wie weit bei der Ausschaltung der nur mit einem Extrakt positiven Sera die Empfindlichkeit abnimmt.

Zur Spezifitätsfrage möchte ich hinzufügen, daß natürlich auch uns nicht die WaR. der Gradmesser ist, daß vielmehr der klinische Befund und die klinische Anamnese für uns in dieser Hinsicht leitend sind. Wir sind in dieser Beziehung in Heidelberg in der glücklichen Lage, von der Klinik sehr eingehend unterstützt zu werden, und so entscheiden bei unserer Rubrizierung der Fälle keineswegs die WaR., sondern vor allem die Angaben der Klinik.

---

13. Vortrag. Kruse (Leipzig):

Rasse und Blutzusammensetzung.

Anthropologie und Rassenlehre erfreuen sich neuerdings einer regen Anteilnahme in weitesten Kreisen. Man sollte denken, daß auch die Mikrobiologie in der Lage wäre, reichlichere Beiträge dazu zu liefern, denn Rassenverschiedenheiten werden sich ebenso gut abspiegeln können in den feineren biochemischen Eigenschaften der Zellen und Säfte, mit denen sich die Mikrobiologie befaßt, als in den morphologischen Merkmalen, auf die sich meist die Anthropologie beschränkt. Bis vor kurzem war auf unserem Gebiete nur wenig geleistet. Schon lange hat man allerdings behauptet, die Empfänglichkeit für diese oder jene Krankheit sei bei den menschlichen Rassen eine ungleiche. Sieht man sich aber die Beweise dafür näher an, so erscheinen sie meist recht dürftig. Zweifelhaft ist namentlich die oft behauptete Immunität mancher Rassen gegen Seuchen, wenn sie auch, nach den Erfahrungen an Tieren zu urteilen, möglich erscheint. Selbst da, wo man deutliche Unterschiede der Widerstandsfähigkeit wahrnimmt, wie z. B. bei der Tuberkulose, ist es noch strittig, ob man es mit einer Eigenschaft zu tun hat, die im Leben des einzelnen nach Durchseuchung erworben, oder mit einer Rasseneigenschaft, die ihrerseits im Leben der Rasse auf ähnliche Weise erworben oder auf anderem Wege entstanden sein könnte. Seit dem Bekanntwerden der Immunkörper hat man mehrfach den Versuch gemacht, Rassenunterschiede durch sie festzustellen. Bei den Präzipitinen und komplementbindenden Antikörpern ist das nicht gelungen, mindestens nicht in dem Sinne, daß man zu einer für Arbeiten im Großen brauchbaren Methodik gelangt wäre. Mehr Erfolg hatte man mit den Hämagglutininen des normalen Blutes. Es hat sich gezeigt, daß die von Landsteiner u. a. aufgestellten Agglutinationsgruppen bei den einzelnen Völkern in ungleicher Häufigkeit vertreten sind. Die umfangreichsten Untersuchungen darüber verdanken wir den beiden Hirschfeld, die das Völkergemisch des Weltkrieges bei Saloniki zu studieren Gelegenheit hatten. Bis in die letzten Tage hinein haben sich unsere Kenntnisse zwar erweitert, die vorliegenden Ergebnisse beweisen aber, daß es noch vieler genauen Forschungen bedarf, um zu einer Klarheit zu gelangen, So stimmen schon die wenigen Zahlen, die für die Deutschen vorliegen, keineswegs überein. Auf Einzelheiten einzugehen, ist hier nicht der Ort, zumal eine Arbeit von Sucker aus meinem Institut bald erscheint. Nur einige Bemerkungen mögen hier genügen. Zunächst ist das Untersuchungsverfahren sehr einfach, Stoff hat man jetzt überall massenhaft zur Verfügung, wo Wassermann-Prüfungen gemacht werden. Sonst genügt aber schon für jede Person ein Blut-

tröpfchen. Außerdem sind noch nötig 2 oder besser 3 Testseren, die man aus seiner Umgebung oder auch aus den Wassermann-Proben leicht erhalten kann. Der Bedarf ist auch hier sehr gering, da man für jedes Blut mit einer Oese auskommt. Natürlich wird man die bisherige Methodik wohl noch verbessern, namentlich quantitativ ausgestalten können, es wäre aber empfehlenswert, um vergleichbare Ergebnisse zu bekommen, auf das Verfahren seiner Vorgänger Rücksicht zu nehmen. Die Hauptsache ist, daß man eine genügend große Zahl von Personen untersucht. Mit 100 oder 200 ist nur wenig gedient, erst 500 bis 1000 genügen. Wichtig ist weiter, auf die Herkunft des Blutes zu achten. Am besten wäre es, wenn wie bei anderen anthropologischen Untersuchungen der Geburtsort und -Kreis der Person nicht nur, sondern auch ihrer Eltern vermerkt würde. Das wird freilich nicht immer zu erreichen sein. Juden müssen für sich behandelt werden, da sie anderer Rasse sind. Sie sollten aber auch herangezogen werden. Wenn man da und dort auch nur kleinere Zahlen gewinnt, so kann man sie doch bezirksweise zusammenfassen und so schließlich Zahlen bekommen, die groß genug sind, um die wichtige Frage entscheiden zu helfen, ob und wie weit bei Juden eine Anpassung der anthropologischen Merkmale an das Wirtsvolk stattfindet. Selbstverständlich ist, daß neben den eigentlichen Massenuntersuchungen auch andere Seiten der Frage, die der Aufklärung bedürfen, bearbeitet werden können. Sicher erscheint es schon jetzt, daß die ursprüngliche Gruppeneinteilung nicht erschöpfend ist, wenn sie auch vorläufig für die anthropologische Massenforschung genügen mag. Warnen möchte ich davor, aus den irgendwo erhaltenen Prozentzahlen jetzt schon weitgehende Schlußfolgerungen auf die Rassenzusammensetzung der Bevölkerung zu ziehen. Ich habe aus meinen anthropologischen Untersuchungen die Ueberzeugung gewonnen, daß die für Europa aufgestellten Rassen recht zweifelhafte Gebilde sind. Wir werden vor allem noch viel mehr Stoff nicht bloß in Deutschland, sondern auch in allen anderen Ländern sammeln müssen. Auf einen Punkt möchte ich noch hinweisen. Bisher ist man bei der Zusammenstellung der Ergebnisse meist ausgegangen von den 4 Gruppen, die sich durch die agglutinierbaren Seitenketten der roten Blutkörper unterscheiden lassen (A + B, A, B, 0) und hat gelegentlich das Verhältnis von A:B als Index benutzt. Hierdurch kommt man zwar zu gewaltigen Unterschieden, da dieser Index von 10—0,5 schwankt, muß aber gleichzeitig die amerikanischen Rothäute mit dem höchsten Index von ihren mongolischen Verwandten mit niederem Index trennen, und die Europäer in die sehr breite Indexgruppe 4,5—1,2 unterbringen. Mir scheint es von vornherein mindestens ebenso berechtigt, von den Hämagglutininen des Serums auszugehen und den Index b:a zu benutzen, dann stehen die Europäer an der Spitze mit 1,8—1,2 und alle übrigen folgen mit 1,2—0,8.

Zum Schluß ist die Frage wohl erlaubt, ob sich durch genauere Untersuchung der übrigen Immunkörper des normalen Blutes nicht ebenfalls Rassenunterschiede feststellen lassen. Bekannt sind ja die beträchtlichen individuellen Unterschiede in der Wirkung der Bakterien-Agglutinine, Alexine und Opsonine. Mit systematischen Untersuchungen darüber sind wir jetzt beschäftigt. Im Interesse der Anthropologie wie der Mikrobiologie selbst liegt es, das ganze Gebiet umfassend zu bearbeiten.

14. Vortrag. F. Schiff und L. Adelsberger (Berlin): Ueber blutgruppenspezifische Antikörper und Antigene.

Mit 2 Abbildungen im Text.

I. Ueber blutgruppenspezifische Antikörper.

a) Gruppenspezifische Antikörper des normalen Menschenserums.

Im normalen Menschenserum sind von gruppenspezifischen Antikörpern Isoagglutinine und Isolysine bekannt. Isopräzipitine sind bisher nicht nachgewiesen worden. Bei der Untersuchung auf komplementbindende Antikörper stellten wir fest, daß ein Komplementverbrauch in der Regel weder bei der Isolyse noch auch bei der Isoagglutination stattfindet. Die erstere ist aber, ebenso wie die spezifische Immunhämolyse, an die Anwesenheit von Komplement gebunden. Es handelt sich dabei also um eine Komplementbeteiligung, aber ohne Komplementverbrauch, ganz so wie das für die Immunhämolyse von Bail, Weil, Liefmann u. a. angenommen wird. Zum Unterschied gegenüber der Immunhämolyse läßt sich bei der Isolyse das Erhaltensein des Komplements ohne Anwendung irgendwelcher Kunstgriffe demonstrieren. Diese Feststellung gilt für die bei Komplementbindungsversuchen gewöhnlich gebrauchte Technik. Die Frage, ob ein spurweiser Verbrauch von Komplement mit besonders verfeinerter Technik vielleicht doch nachweisbar wäre, soll hiermit nicht entschieden werden. Die von Singer, einem Schüler Weils, geäußerte Vermutung, daß die Komplementbindung zur Hämagglutination in enger Beziehung stehe, gilt für die Isoagglutination durch normales Serum nicht.

In wenigen Fällen haben wir aber auch komplementbindende Isoantikörper nachweisen können. (In nennenswerter Stärke nur dreimal bei über 100 untersuchten Seris.) Sie traten niemals allein, sondern stets neben den Isoagglutininen und den Isolysinen auf. Wir sahen folgende Typen des Auftretens[1]):

	Agglutinine	Lysine	Komplementbindende Antikörper
Fall 1	b	b	b
„ 2	ab	ab	b
„ 3	ab	ab	a

Näher untersucht haben wir das am stärksten wirkende der drei Sera, das bei mehrfach wiederholter Entnahme innerhalb von 8 Monaten stets dieselben Resultate gab (Fall 3 der Tabelle). Wir erhielten bei Prüfung der Blutkörperchen von 31 Personen stets eine stark positive Komplementbindungsreaktion mit den Blutkörperchen der Gruppen 2 und 4, dagegen niemals mit Gruppe 1 und 3. Die Reaktion war also spezifisch für den Blutkörperchenrezeptor A von v. Dungern und Hirschfeld. Der Titer des komplementbindenden Antikörpers war etwas niedriger als der Isolysin- und Agglutinintiter. In Ausfällungsversuchen wurde der komplementbindende Antikörper durch A-haltige Blutkörperchen aus dem Serum völlig entfernt, nicht dagegen durch A-freie. Die Komplementbindung erfolgte auch mit gekochten

1) Wir bezeichnen die Blutkörperchenrezeptoren mit A und B, die Serumantikörper korrespondierend mit a und b. Es gilt dann für die Blutgruppen das folgende Schema: Gruppe 1 ab; Gruppe 2 Ab; Gruppe 3 Ba; Gruppe 4 AB.

Blutkörperchen; auch Stromata, sowie mit Alkohol behandelte Blutkörperchen reagierten noch kräftig. Dies Verhalten ist mit Rücksicht auf seine Verwertbarkeit für forensisch-medizinische Zwecke beachtenswert. Man ist bei Verwendung komplementablenkender Antisera vom Erhaltungszustand der Blutkörperchen viel weniger abhängig als bei der Agglutination.

Für das Auftreten von Isoantikörpern im Serum, bzw. für die Empfänglichkeit der Blutkörperchen gilt anscheinend eine Gesetzmäßigkeit, die das folgende Schema darstellt:

Schema für das Auftreten gruppenspezifischer Antikörper und Antigene.

Serum	Blutkörperchen
1. Agglutinine 2. Agglutinine + Hämolysine 3. Agglutinine + Hämolysine + komplementbindende Antikörper	reagieren stets mit allen drei Antikörpern.

Es besteht also für den Antikörpergehalt eine eigenartige Stufenreihe, während die Blutkörperchen sich stets gleichartig verhalten. Wie läßt sich nun dieser Unterschied zwischen Blutkörperchen und Serum erklären? Die Antwort hängt nach unserer Auffassung zusammen mit der Lösung des Problems, worauf überhaupt das auffallende Alternieren im Auftreten von Serum und Blutkörperchen zurückzuführen ist, warum die meisten Menschen, welchen ein gruppenspezifischer Blutkörperchenrezeptor fehlt, in ihrem Serum ein homologes Agglutinin besitzen. Zur Erklärung scheint uns die Vererbungslehre gewisse Hinweise zu geben. Wir wissen, daß die gruppenspezifischen Blutkörpercheneigenschaften nach den Mendelschen Regeln und zwar dominant vererbt werden. Wir halten es deshalb für erlaubt, auf das alternierende Auftreten von Antigen und Antikörpern eine Betrachtungsweise anzuwenden, welche sich auf bestimmten Gebieten der Vererbungslehre neuerdings zu bewähren scheint, nämlich die Vorstellung Goldschmidts, daß manche erblichen Unterschiede auf quantitativen Differenzen der Erbfaktoren beruhen, oder wie es Goldschmidt auch ausdrückt, auf ungleichen Reaktionsgeschwindigkeiten. Uebertragen wir diese Vorstellung, die insbesondere auf dem Gebiete der Geschlechtsvererbung, bzw. der sexuellen Zwischenstufen mit Erfolg angewandt worden ist, auf unsere serologischen Verhältnisse, so würden wir für den Fall Blutkörperchenrezeptor A Serumagglutinin a sagen können: alle Menschen produzieren ein Antigen A, aber ungleich schnell, die einen sehr langsam, d. h. in der Zeiteinheit sehr wenig, die anderen schnell, d. h. in der Zeiteinheit reichlich. Bei der ersten Gruppe, den Menschen mit wenig A, wird gerade nur so viel Antigen gebildet, daß es eben zur Antikörperbildung ausreicht, das sind die Menschen, deren Serum Agglutinin enthält, bei der zweiten Gruppe ist die Antigenproduktion so intensiv, daß eine Anreicherung des Antigens in den Zellen stattfindet, sodaß evtl. gebildete Antikörper durch Bindung an die Zellen dem Serum wieder entzogen würden. Das sind die Menschen mit dem Blutkörperchenrezeptor A.

Selbstverständlich ist diese Vorstellung, die die Anwesenheit unilokaler Faktoren in der Bezeichnungsweise E. Baurs zur Voraussetzung hat, im einzelnen modifizierbar (Hemmungsfaktoren u. a.); grundsätzlich wichtig scheint uns nur die Anwendung des Prinzips der ungleichen Reaktionsgeschwindigkeiten und die Annahme, daß es

sich beim Auftreten von Agglutinin und korrespondierendem Antikörper um verwandte Erscheinungen handelt, denen nicht verschiedene voneinander unabhängige Erbfaktoren, sondern verschiedene, erblich regulierte Zustände des gleichen Faktors zugrunde liegen. Auch für Einzelheiten ergeben sich dann Analogien aus dem Gebiete der Vererbungslehre, Serumantikorper („Gruppe unilokaler Faktoren", „System multipler Allelomorphen") und für die Tatsache, daß die antigenhaltigen Blutkörperchen, gewissermaßen als das letzte Glied der Reihe, alle drei Antikörperreaktionen geben („Umschlagspunkt"), ferner auch für das unterschiedliche Auftreten von Antigen und Agglutinin in der Ontogenese: das Agglutinin, also die Eigenschaft, die nach unserer Vorstellung bei langsamer Antigenproduktion auftritt, erscheint später, es ist im Gegensatz zum Antigen beim Säugling oftmals noch nicht vorhanden; ähnliche Verhältnisse hat die Vererbungsforschung für die Pigmentierung der Schwammspinnerraupen festgestellt: diejenigen, welche den Pigmentierungsfaktor in großer Quantität enthalten, sind von vornherein dunkel gefärbt, diejenigen, bei welchen nur eine geringe Quantität des Faktors angenommen wird, zeigen eine geringere Pigmentierung und auch diese erst gegen Ende des Raupenstadiums oder noch später.

Zu betonen ist, daß die hier versuchte erbtheoretische Erklärung für das alternierende Auftreten von Isoantikörper und Antigen einer experimentellen Nachprüfung bedarf. Als Vorzug betrachten wir, daß sie einer solchen in weitem Umfang zugänglich ist. Für die Serologie würde sich eine wichtige Konsequenz ergeben: die normalen Antikörper des Serums wären als Produkte eines echten Immunisierungsprozesses anzusehen.

b) Gruppenspezifische Immunantikörper.

Gruppenspezifische Immunantikörper gegen Menschenblut haben v. Dungern und Hirschfeld sowie Hooker und Anderson durch Vorbehandlung von Kaninchen gewinnen können. Auch uns ist die Herstellung gruppenspezifischer Immunsera gelungen. Nach unseren Erfahrungen erhält man bei Vorbehandlung von Kaninchen mit A-haltigen Blutkörperchen am häufigsten rein artspezifische Antikörper, nur bisweilen daneben gruppenspezifische. In manchen Fällen tritt der artspezifische Antikörper quantitativ so stark zurück, daß man schon bei hohen Serumkonzentrationen und ohne elektive Ausfällungen ein fast rein gruppenspezifisches Immunserum hat. Neben dem bereits bekannten Agglutinin sahen wir auch ein gruppenspezifisches Hämolysin, ferner aber auch komplementbindende Antikörper sowie Präzipitine mit gruppenspezifischer Wirkung auftreten. Die Komplementbindungsreaktion fiel auch mit gekochten Blutkörperchen sowie mit alkoholischen Extrakten positiv aus, ferner bemerkenswerterweise auch mit Blutserum. Positiv reagierten niemals Sera, wenn in den zugehörigen Blutkörperchen das Antigen A fehlt. War A vorhanden, so fiel die Reaktion meist, aber nicht immer, positiv aus. Wir nehmen an, daß das Antigen A, und zwar in geringerer Menge als in den Blutkörperchen, auch im Blutserum vorhanden sein kann. Nur in einzelnen Fällen wurde es vermißt. Die Versuche ergänzen in bezug auf das Vorkommen des Antigens im Serum die früher von dem einen von uns mitgeteilten Erfahrungen mit gruppenspezifischen Präzipitinen. Unsere Erfahrungen über das Auftreten bzw. Fehlen von gruppen-

spezifischen Antigenen in normalem und pathologischem Körpergewebe (Herz, Niere, Aorta, Sperma, Tumoren) sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden.

II. Ueber gruppenspezifische Rezeptoren.

Den Ausgangspunkt unserer Versuche bildete eine Zufallsbeobachtung. Bei den oben erwähnten Komplementbindungsversuchen mit normalem Menschenserum fanden wir ein normales Meerschweinchenserum, welches von sich aus auf menschliche Blutkörperchen lytisch wirkte, und zwar gruppenspezifisch gegen Gruppe 2 und 4 (Rezeptor A). Das Lysin ließ sich bei 55° reaktivieren. Durch Kontakt mit A-haltigen Blutkörperchen wurde das Lysin aus dem Serum entfernt. Neben diesem gruppenspezifischen Menschenblutlysin enthielt nun das Meerschweinchenserum noch ein anderes Hämolysin, nämlich für Schafblut. Derartige Lysine sind beim Meerschweinchen ziemlich selten, übrigens für gewöhnlich unerwünscht, weil sie bei der WaR. nicht verwendbar sind.

Die gleichzeitige Anwesenheit der beiden Lysine konnte ein zufälliges Zusammentreffen darstellen, aber ebensogut konnte auch an eine Rezeptorengemeinschaft zwischen A-haltigen Menschenblutkörperchen und Schafblutkörperchen gedacht werden. Wir stellten deshalb wechselseitige Ausfällungsversuche an.

Tabelle I.

Hämolyse von Schaf- und Menschenblut durch Meerschweinchenserum „W" vor und nach Behandlung des Serums mit Schafblut bzw. mit Menschenblutkörperchen A und Nicht-A.

Blutkörperchen	Serum unbehandelt	Serum ausgefällt mit		
		Schafblut	Menschenblut	
			A	Nicht-A
Schaf	+	—	—	+
Mensch A	+	(+)	—	+
Mensch Nicht-A	—	—	—	—

Die Versuche erweisen die Anwesenheit eines gleichartigen bindenden Rezeptors in Schaf- und in A-haltigen Menschenblutkörperchen. Die Blutkörperchen verschiedener Schafe verhielten sich gleichartig. Das Meerschweinchenlysin ist, wie der Versuch zeigt, nicht einheitlich, denn neben dem Anteil, welcher an dem gemeinsamen Rezeptor angreift, enthält es einen anderen, welcher nur mit Menschenblut A, nicht mit Schafblut reagiert. (Vgl. vorstehendes Schema.)

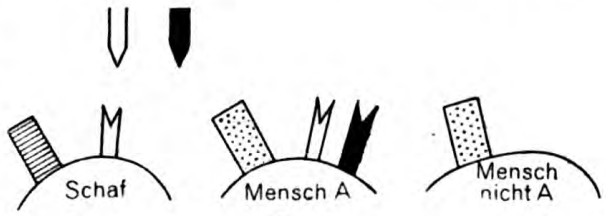


Fig. 1.

Auf derartige „monovalente" Lysine sei ausdrücklich hingewiesen, weil sie anscheinend weit häufiger als die bivalenten sind. Wir haben auch entsprechende normale Schaflysine in anderen Meerschweinchenseris gefunden, ohne daß eine Beziehung zu Menschenblut bestand.

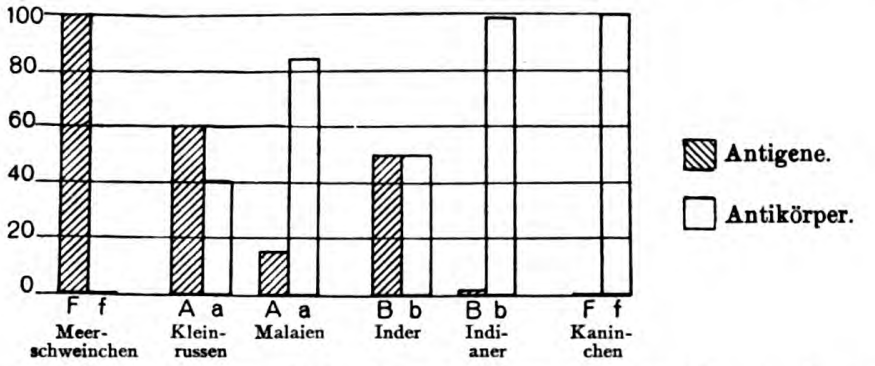
Rein monovalent sind nach unseren bisherigen Erfahrungen übrigens auch die Antikörper normaler Menschensera: auch hier haben wir eine Beziehung zwischen dem Isoantikörper a und dem Schaflysin bisher nicht teststellen können. Der Titer des Schafblutlysins im normalen Menschenserum steht in gar keiner Beziehung zum Isoagglutin a. Das Auftreten des Lysins ist unabhängig von der Blutgruppenzugehörigkeit und auch kreuzweise Ausfällungsversuche blieben ohne Ergebnis. Der negative Ausfall dieser Versuche spricht natürlich nicht gegen die Existenz einer auf anderem Wege erwiesenen Rezeptorengemeinschaft, denn wir wissen ja, daß alle Antisera „unvollständig" sind, d. h. daß sie nicht Antikörper für sämtliche Rezeptoren eines Antigens enthalten.

Weitere Beweise für die Anwesenheit gleichartiger Rezeptoren bei Schaf- und Menschenblutkörperchen lieferten uns nun Immunisierungsversuche. Es gelang in einigen Fällen (eine ausführliche Wiedergabe der Versuche erfolgt an anderer Stelle) durch Vorbehandlung mit A-haltigen Blutkörperchen, einmal auch mit gekochten A-Blutkörperchen, ein Schaflysin zu gewinnen. Daß es sich nicht um eine unspezifische Steigerung normalen Hämolysins handelt, entnehmen wir einmal aus dem Immunisierungsindex; er betrug in drei positiven Versuchen > 17, 50, 60, lag also in derselben Größenordnung wie bei Vorbehandlung von Kaninchen mit dem Forssmanschen Antigen, vor allem aber aus dem Ausfall der Bindungsversuche: das Schaflysin wurde durch Menschenblutkörperchen A leicht aus dem Serum herausgenommen, nicht aber durch A-freie Menschenblutkörperchen. Bei Prüfung mit 30 verschiedenen A-haltigen Menschenblutproben sahen wir 29mal eine Bindung des Schaflysins, einmal dagegen blieb sie aus (Fall Heiser). Eine Prüfung des Blutes Heiser mit menschlichen Normalseris zeigte, daß in diesem Fall ein defekter A-Rezeptor vorlag. Denn es gelang nicht, aus a-haltigen Normalseris das Agglutinin für die Mehrzahl der A-haltigen Blutkörperchen zu entziehen. Nur für das Blut Heiser selbst sowie für einige andere Blutproben vom Typus A waren die Sera durch Vorbehandlung mit Heiser unwirksam geworden. Das Verhalten unseres heterogenetischen Schaflysins im Falle Heiser zeigt, daß die Spezifität des Serums eine sehr weitgehende ist. Die Verhältnisse liegen hier ähnlich wie bei dem Forssmanschen Schafblutlysin, welches bekanntlich in gewissem Sinne spezifischer ist als das echte isogenetische Schaflysin, insofern das letztere auch Rinderblut löst, das erstere dagegen nicht.

Bestehen nun direkte Beziehungen des Blutkörperchenantigens A zum Forssmanschen Antigen? Eine Identität liegt jedenfalls nicht vor; denn es gelingt nicht, aus einem gewöhnlichen heterogenetischen Immunserum, z. B. dem Serum eines Kaninchens, welches mit Pferde- oder mit Meerschweinchenniere vorbehandelt wurde, das Schaflysin durch Kontakt mit Menschenblutkörperchen A zu entfernen. Dagegen wird umgekehrt das Schaflysin, gewonnen durch Vorbehandlung mit Menschenblut A, durch alle jene Substrate entzogen, welche das Forssmansche Antigen enthalten. Wir dürfen uns deshalb die Beziehung zwischen dem Meerschweinchenblutantigen A und den Substraten, welche das Forssmansche Antigen enthalten, unter dem Bilde einer partiellen Rezeptorengemeinschaft vorstellen.

Aus unseren Versuchen darf wohl gefolgert werden, daß es sich bei den gruppenspezifischen Rezeptoren des Menschen und mancher Tiere einerseits, den Forssmanschen Rezeptoren andererseits um wesensverwandte Erscheinungen handelt. Daß das Antigen bald innerhalb der Spezies gruppenspezifisch, bald wieder bei allen Tieren einer Art auftritt, scheint uns einen prinzipiellen Gegen-

satz nicht zu bedeuten, sehen wir doch auch beim Menschen in der relativen Häufigkeit der gruppenspezifischen Antigene große Unterschiede je nach Rasse und Erdteil. Die Extreme, welche für A und B, bzw. a und b beobachtet worden sind, sind in der folgenden Abbildung



F = Forssmansches Antigen. A B = Gruppenantigene des Menschen, f = Forssmansches Lysin, a b = Gruppenantikörper des Menschen.

Fig. 2. Extreme Beobachtungen für die relative Häufigkeit der blutgruppenspezifischen Antigene und Antikörper.

wiedergegeben. Daneben ist das Verhalten des Forssmanschen Antigens, bzw. Antikörpers bei Meerschweinchen und Kaninchen dargestellt.

Denken wir uns eine Volksgruppe mit 100 Proz. anstatt 60 Proz. A, so hätten wir ein regelmäßiges Auftreten des Rezeptors, also einen „Meerschweinchentypus"; erfolgt die Entwicklung nach der entgegengesetzten Richtung, also im Sinne einer Zunahme des Agglutinins, so hätten wir als Endzustand den „Kaninchentypus". Bei den Indianern ist dieser letztere Fall für das Agglutinin b nahezu erreicht (98 Proz.). Wären die anderen Kontinente versunken, und gäbe es nur Indianer, so wäre ein Kaninchentypus hier für die Spezies Mensch verwirklicht.

Daß überhaupt beim Forssmanschen Phänomen ganz ebenso wie bei den Gruppenreaktionen ein alternierendes Auftreten von Antigen und Antikörper zu beobachten ist, scheint uns ein weiterer Hinweis auf die Wesensverwandtschaft der beiden Erscheinungen. Für das Forssmansche Antigen hat Friedemann[1]) in scharfsinniger Weise zu erklären versucht, warum eine Spezies das Antigen besitzt, die andere das homologe Hämolysin.

Mit der von ihm bereits vor längerer Zeit entwickelten Theorie deckt sich bemerkenswerterweise fast völlig unsere oben für das alternierende Auftreten von Isoantigen und Isoantikörper dargelegte Auffassung, welche auf einem durchaus anderen Wege, nämlich in enger Anlehnung an Anschauungen der Vererbungslehre, gewonnen wurde.

Ist aber das Forssmansche Antigen den vererbbaren Gruppenantigenen wesensverwandt, so ist es wahrscheinlich, daß auch das Forssmansche Antigen sich vererbt, und zwar vermutlich ebenfalls nach den Mendelschen Regeln, wenn sich das auch zunächst nicht nachweisen läßt, weil ja alle Eltern das Antigen, und zwar homozygotisch, besitzen. Damit aber würde Licht fallen auf die bis-

1) Friedemann, Bioch. Zeitschr. 1917. 80. 333.

her so rätselhafte Verbreitung des Forssmanschen Antigens in der Tierreihe (z. B. bei Huhn und Schildkröte, nicht aber bei Taube und Frosch). Denn den Zoologen und Botanikern ist es eine wohlbekannte Erscheinung, daß vererbbare Eigentümlichkeiten in ähnlicher Weise bei verschiedenen Tiergattungen auftreten.

Es sei etwa auf gewisse, sehr eingehend erbanalytisch untersuchte Fellfärbungen, z. B. „Wildfarbe", „gelbe Farbe", verwiesen, die sich u. a. bei Kaninchen, Mäusen, Hunden, Ziegen vorfinden. Einige solcher Reihen homologer Merkmale sind nachstehend zusammengestellt; daneben sind ähnliche homologe Reihen aus dem Gebiete der Serologie aufgeführt.

Tabelle 2.

Verbreitung homologer Merkmale im Tier- (und Pflanzen)reich.

I. Serologische Merkmale[1]).

Antigene.

Forssmansches Antigen: Schaf, Meerschweinchen, Pferd, Huhn, Schildkröte, Hund, Katze usw.

Blutkörperchenrezeptor A (bzw. A1): Mensch, Schimpanse (3 Tiere, v. Dungern und Hirschfeld), Schaf, Pferd, Meerschweinchen, Huhn.

Blutkörperchenrezeptor B: Mensch (Gruppe 3 und 4), Kaninchen (28 unter 30 Tieren, v. Dungern und Hirschfeld), Hund, Rind, vereinzelt Katze, Pferd.

Antikörper:

Forssmansches Lysin: Kaninchen, Schwein, Rind, Mensch usw.

Agglutinin Anti A: Mensch (Gruppe 1 u. 3), Kaninchen, Schwein, Ziege, Hund, Rhesusaffe, Meerschweinchen.

Agglutinin Anti B: Mensch, Kaninchen, Ziegen, Hund, Huhn.

II. Vererbbare Merkmale der Färbung, Behaarung usw.

Färbung (weiß, gelb, „wildfarbig" usw.): Kaninchen, Mäuse, Hunde, Ziegen[2]).

Haarkleid: Spiralhaare: Buschmann, Astrachanschaf.

Angorafell: Katze, Ziege.

Hängebäume, Blutbäume bei verschiedenen Gattungen[2]).

Wie weit die einzelnen verglichenen Merkmale wirklich völlig gleichwertig sind, läßt sich naturgemäß nicht entscheiden; das gilt sowohl für die aus der Naturgeschichte herangezogenen Beispiele, wie für die serologischen Eigentümlichkeiten.

Betrachten wir das Forssmansche Antigen also als vererbbares Merkmal, so können wir sagen: die Frage, warum gerade Huhn und Schildkröte, nicht aber Taube und Frosch das Forssmansche Antigen bilden, liegt auf demselben Gebiet, wie diejenige, warum Zebra und Tiger eine Streifenzeichnung besitzen, Pferd und Löwe dagegen nicht.

Auch für die Frage nach dem ersten Auftreten der Blutgruppenantigene ist diese naturgeschichtliche Betrachtungsweise wichtig. Alle die erwähnten Merkmale kann man sich nicht anders als durch Mutation entstanden denken. So müssen auch bei Mensch und Tier die vererbbaren Bluteigentümlichkeiten zuerst aufgetreten sein. Daß die Anlage zur Bildung derartiger Mutationen nicht etwas ganz Singuläres sein kann, ergibt sich aus der weiten Verbreitung vererbbarer gruppenspezifischer Antigene und Antikörper im Tierreich. Wann und wie oft sie beim Menschen durch Mutation neu entstanden sind, läßt sich heute noch nicht beurteilen. Die von einigen Autoren beobachteten Abweichungen von dem bekannten Vererbungstypus, nämlich das Auftreten der für gewöhnlich dominanten Merkmale

1) Die Angaben über A, B, Anti A und Anti B überwiegend nach v. Dungern und Hirschfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 8. 1911.

2) Vgl. auch Baur, Vererbungslehre. 5./6. Aufl. 1922. S. 323.

A und B bei Kindern B-freier Eltern, würden, wenn sie sich bestätigen, möglicherweise als Mutationen gedeutet werden können. Hier sind weitere sehr sorgfältige serologische Untersuchungen erforderlich. Die anscheinende Konstanz der Blutgruppenformel innerhalb der weißen Rasse spräche nicht unbedingt dagegen, daß, wenn auch vielleicht sehr selten, auch heute noch derartige Mutationen auftreten, um so weniger, als ihr Effekt auf die Blutgruppenformel ja durch das Auftreten entgegengesetzter Mutationen aufgehoben werden könnte. Jedenfalls aber erscheint es uns unberechtigt, eine nur einmalige Entstehung von A und B dogmatisch vorauszusetzen, und auf Grund einer derartigen Annahme zwei „Urrassen" zu konstruieren, wobei dann noch übersehen wird, daß es nicht angeht, eine „Rasse" nur durch ein einziges Merkmal zu charakterisieren[1]).

Für die allgemeinbiologische Einordnung der Gruppenspezifität, die wir bisher nur bei Warmblütern kennen, sei darauf hingewiesen, daß wir sie als einen Spezialfall einer auch sonst in der Natur auftretenden Erscheinung ansehen können. Eine weitgehende Aehnlichkeit bieten die Verhältnisse der sog. Selbststerilität, wie sie Correns beim Wiesenschaumkraut untersucht hat. Die Selbststerilität beruht darauf, daß die Pollenkörner auf der Narbe der eigenen Pflanze nicht zur Auskeimung kommen. Als Grund hat Correns individualspezifische Hemmungsstoffe angenommen, welche vererbbar sind, und ebenso wie gegen den individuumeigenen Pollen auch gegen den Pollen einzelner anderer Pflanzen wirken, also in Wirklichkeit gruppenspezifisch sind. Auch hier also liegt eine vererbbare gruppenspezifische Reaktionsweise bestimmter Zellen gegenüber anderen Teilen des Organismus vor.

Auf theoretische Schlußfolgerungen, wie sie sich für eine Reihe von Problemen der allgemeinen Physiologie, der Immunitätslehre und der Konstitutionsforschung[2]) aus unseren Versuchen und überhaupt aus den Ergebnissen der Blutgruppenforschung ableiten lassen, muß an dieser Stelle verzichtet werden. Nur ein Punkt sei kurz erwähnt. Wir kennen in den Isorezeptoren Antigene, welche im Tierreich sehr weit verbreitet sind. Je weiter ein Rezeptor verbreitet ist, desto schwieriger ist es, ihn aufzufinden, und als Antigen zu erkennen, da ja der Organismus gegen körpereigene und vor allem gegen bluteigene Stoffe Antikörper in der Regel nicht bildet. Ein Rezeptor, der bei allen unseren Versuchstieren vorhanden ist, ist eben deshalb nicht mehr antigenfähig, nicht aus einem inneren Grunde seiner chemischen Konstitution, sondern aus dem mehr zufälligen seiner Verbreitung im Tierreich. Wenn wir einen Antigenkomplex durch künstliche Eingriffe entdifferenzieren, abbauen, so stellen wir vermutlich einfachere Komplexe dar, wie sie im Tierreich von vornherein weit verbreitet sind. Damit sind

1) Auch mit der Annahme von „Wanderungen" zur Erklärung geographischer Unterschiede in der Blutgruppenformel wird man unseres Erachtens sehr vorsichtig sein müssen. Denn zu einer Verschiebung der Blutgruppenformel könnte es auch ohne Wanderung kommen, einmal, wenn einer gruppenspezifischen Eigenschaft ein besonderer Selektionswert innewohnt, der sich vielleicht nur bei ganz bestimmten Lebensverhältnissen geltend macht, dann aber auch bei fortgesetzter Inzucht, die zu einer relativen Zunahme an homozygoten Individuen führt (Pearl, Americ. Natural. 1913, 1914; vgl. E. Baur, Lehrbuch).

2) Vgl. die Diskussionsbemerkungen von Schiff in der Berliner Gesellschaft für Konstitutionsforschung Mai 1924.

wir dann an einer der Grenzen der Antigenfähigkeit angelangt.

Aussprache zu Vortrag 13 und 14.

Abel (Jena) befürwortet warm die von Kruse angeregten Untersuchungen, hält aber eine Gleichmäßigkeit in den anzuwendenden Verfahren usw. für unbedingt erforderlich und warnt vor vorschnellen Folgerungen aus zu geringen Zahlen. Zweckmäßig würde Herr Kruse die Einrichtung einer Zentralstelle in die Hand nehmen, von der aus Richtlinien und Hilfsmittel für ein einheitliches Vorgehen ausgegeben werden. Mit den Blutuntersuchungen Hand in Hand sollten anthropometrische Messungen der zu prüfenden Personen gehen. Besonders wichtig wären Durchuntersuchungen ganzer Familien in mehreren Generationen.

F. Bernstein (Göttingen): In Beantwortung einer Frage des Hauptreferenten möchte ich ausführen:

Die Anzahl der Beobachtungen, die für einen bestimmten wahrscheinlichen Fehler so in der beobachteten Prozentzahl sich als notwendig erweist, schätzt sich nach folgender Formel:

$$W = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} 0{,}67 < \frac{1}{2n} 0{,}67$$

Das ergibt z. B.

Zahl der Beobachtungen	wahrsch. Fehler kleiner als %
n = 400	1,5
= 625	1,2
= 900	1,0
= 1000	0,75

Sachlich eingehend habe ich mich mit der Frage der erblichen Blutstrukturen in einer demnächst in der Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre erscheinenden Arbeit beschäftigt.

L. Adelsberger (Berlin): Die Tatsache, daß sich bei gewissen Gruppen von Menschen Antikörper finden, die im Tierreich weit verbreitet sind, dürfte für manche andere Probleme nicht ganz ohne Bedeutung sein. So könnten vielleicht gewisse Formen der Idiosynkrasie dadurch eine Klärung finden. Da diese Antikörper nur bei bestimmten Menschen vorkommen, und da es sich überdies nur um eine teilweise Identität handelt, läßt sich verstehen, daß nur bestimmte Menschen reagieren, und daß nur ein gewisser Prozentsatz von Menschen überempfindlich ist. Doerr[1]) hat bereits darauf hingewiesen, daß die bei der Idiosynkrasie vermuteten „Reagine" direkt zu einem Vergleich mit den Isoagglutininen herausfordern. Bei Berücksichtigung der gruppenspezifischen Reaktionen ist es möglich, die Analogie weiter im einzelnen durchzuführen. So sei zunächst daran erinnert, daß besonders häufig von einer Ueberempfindlichkeit gegen Hammelblut, gegen Hühnereiweiß und gegen Pferdeserum berichtet wird, also gegen Substrate, die das Forssmansche Antigen enthalten. Biberstein und Oschinsky[2]) berichten von einer besonderen Toxizität des Hammelserums für den Menschen im Gegensatz zum Meerschweinchenserum und zum Kaninchenserum. Wir haben im Anschluß an diese Versuche Intrakutanreaktionen mit 0,1 ccm Hammelserum angestellt. Dabei zeigten ähnlich wie nach Intrakutanreaktionen von Menschenblutkörperchen bzw. -serum bestimmte Personen entsprechend ihrer Gruppenzugehörigkeit charakteristische Reaktionen. Allerdings ist die Methode bei der bisherigen Technik für diagnostische Zwecke (Blutgruppen, spezifische Ueberempfindlichkeit) nicht verwendbar.

Des weiteren findet die Vererbbarkeit der Idiosynkrasie ein Analogon in dem Verhalten der Agglutinogene, die sich nach den Mendelschen Gesetzen vererben. Der Thermostabilität der Isoantikörper sei Erwähnung getan im Hinblick darauf,

1) Doerr, Ergebnisse der Hyg.-Bakt. Immun. u. exp. Ther. Bd. 5. 1922. S. 71; Schweiz. med. Woch. 1921. Jahrg. 51. Nr. 41. S. 937.

2) Biberstein u. Oschinsky, Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 142. 1923. S. 353.

daß das die Ueberempfindlichkeit auslösende Agens wiederholt thermostabil befunden wurde. So konnten Prausnitz und Küstner[1]) in einem Falle von Fischüberempfindlichkeit die wirksame Substanz nur bei Erhitzen des Fischmuskels bis zur Gerinnungstemperatur des Eiweißes nachweisen.

Vor allem erscheint jedoch die passive Uebertragung der Idiosynkrasie auf Tiere in einem ganz anderen Lichte. Es ist möglich, daß ein Tier deshalb nicht reagiert, weil es den Antikörper oder einen Teilrezeptor des die Idiosynkrasie auslösenden Antigens schon normalerweise besitzt (Meerschweinchen!). Ein negativer Uebertragungsversuch erscheint demnach nicht zwingend, und es ist die Forderung aufzustellen, noch andere Tiere mit anderen Rezeptoren zur Prüfung zu verwenden. Daß sich dabei Organe und Blutserum verschieden verhalten können, geht einerseits aus Uebertragungsversuchen[2]) hervor und würde andererseits mit dem Vorkommen der Rezeptoren, bald nur in den Organen, bald im Blute, in Einklang stehen.

Im einzelnen ergeben sich Schwierigkeiten vor allem dadurch, daß zwischen scheinbar gleichartigen Rezeptoren bei verschiedenen Tieren doch noch gewisse Unterschiede bestehen, wie das aus unseren Untersuchungen und aus denen von v. Dungern und Hirschfeld[3]) hervorgeht (Erzeugung eines b-Agglutinins bei Tieren, deren Blutkörperchen bereits ein B besitzen). Immerhin eröffnet die Berücksichtigung der gruppenspezifischen Antikörper nicht nur die Aussicht, dem Problem der Idiosynkrasie näher zu kommen, sondern sie bietet auch die Möglichkeit, geeignete Fälle einer experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Auch andere Einzelheiten, so die von Friedberger und Hjelt[4]) im Anschluß an Weil beschriebenen Auslöscherscheinungen, bei denen sich die Sera der einzelnen Tierarten in unerklärlicher Weise verschieden verhielten, könnten vielleicht von diesem Gesichtspunkte betrachtet werden, und es muß geprüft werden, ob die Menschensera der verschiedenen Gruppen sich dabei verschieden verhalten.

Ferner ist bei der Beobachtung von Kraus, daß die Einwohner von Südamerika Rinderserum auffallend gut vertragen, daran zu denken, daß eine andersartige Verteilung der gruppenspezifischen Antigene und Antikörper bei gewissen Menschenrassen für die Serumempfindlichkeit eine Rolle spielen kann und daß bei Fehlen eines gruppenspezifischen Antikörpers (Indianer!) die Einverleibung bestimmter Tiersera keine Reaktion auslöst.

Schütz (Kiel): Im Anschluß an die Anregung von Herrn Geh. Rat Kruse möchte ich mir erlauben, Ihnen über 1646 Blutuntersuchungen zu berichten, die ich in Schleswig-Holstein im vergangenen halben Jahre ausgeführt habe. Unterstützt wurde ich durch Ueberlassung der ersten Testsera durch Steffan, der seinerseits im Archiv für Rassen- und Gesellschaftsbiologie im Dezember 1923 zu Sammelforschungen, wie der von Herrn Geheimrat Kruse vorgeschlagenen, eine Anregung gab. Die Gruppenverteilung der 1646 Proben war 2,9 Proz., 43,1 Proz., 11,6 Proz., 42,4 Proz. Ich habe das Material nun weiter zerlegt zunächst nach der Herkunft: 930 Wassermann-Proben aus Schleswig-Holstein ergaben ähnliche Zahlen: 2,8 Proz., 42,2 Proz., 11,8 Proz., 43,2 Proz. Ein Einfluß des Geschlechts, des Ausfalls der Wassermannschen Reaktion, der Herkunft der Proben aus Stadt und Land war nicht festzustellen. 253 Blutproben von Schulkindern aus der abgelegenen Landschaft Angeln ergaben die Zahlen: 2,4 Proz., 50,6 Proz., 7,5 Proz., 39,5 Proz., vor allen Dingen also ein Ansteigen der Werte für Gruppe II und Absinken der für Gruppe III. Nach sozialem Milieu geordnet, zeigten 142 Akademiker (ausgesucht gut begabte Studenten, Assistenten, Professoren der Kieler Universität) 3,5 Proz., 49,4 Proz., 9,1 Proz., 38 Proz., also ähnliche Werte wie in Angeln. Dagegen wiesen 138 Gefängnisinsassen die Werte 4,4 Proz., 34,8 Proz., 10,9 Proz. und 50 Proz. auf, vor allen Dingen also ein Abfallen der Werte der Gruppe II. Wie weit die Zahlen von Bedeutung sind, muß an einem größeren Material nachgeprüft werden, für einheitlich zusammengesetzte Bevölkerungskreise genügen 200 Proben.

---

1) Prausnitz und Küstner, Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 86. 1921. S. 160.

2) Prausnitz und Küstner (l. c.) gelang die Uebertragung auf Menschen mit Muskelfleisch, mit den meisten Organen und mit Rogen, aber nicht mit Blutserum der Fische.

3) v. Dungern und Hirschfeld, Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 4. S. 537; Bd. 6. S. 284; Bd. 8. S. 526.

4) cit. bei Doerr (l. c.) S. 164.

Bezüglich der Technik möchte ich vorschlagen, stets mehrere Seren derselben Gruppe sowie mit gleichem Volumen Kochsalzlösung verdünnte Seren zu verwenden. Besonders in abgeschlossenen Gegenden wird man den Einfluß der Rasse auf die Blutzusammensetzung feststellen können, anthropometrische Aufnahmen sind dabei dringend nötig. Auch die Vererbungsverhältnisse bedürfen eingehenden Studiums durch Aufstellung von Stammbäumen von Blutlinien.

R. Otto (Berlin): Auch wir haben die Sera, welche zur Anstellung der WaR. unserer Abteilung eingesandt wurden, benutzt, um Gruppenbestimmungen durchzuführen. Unter 500 Seren, die größtenteils aus Kreisen des Regierungsbezirks Potsdam stammten, fand Dr. Munter, der obigen Einteilung entsprechend geordnet, zur

Gruppe	I	gehörig	7,6 Proz.
„	II	„	41,8 „
„	III	„	16,8 „
„	IV	„	33,8 „

Der biochemische Rassenindex war demnach 2,03. Im ganzen also etwas von den obigen abweichende Zahlen. (Nachtrag. Unsere Zahlen stimmen indessen genau mit den inzwischen von Sucker (S. 485) veröffentlichten überein.)

Rosenthal (Göttingen): Ich möchte ganz kurz auf einige für die Sammelforschung wichtige Punkte hinweisen. Herr Kruse hat eine Veränderung des Hirschfeldschen Index vorgeschlagen. Nun läßt sich aus den von Herrn Schütz hier vorgeführten Zahlen über verschiedene Völker ableiten, daß wir nicht nur zwei menschliche Grundtypen annehmen dürfen, wie das nach den Mendelschen Gesetzen ja denkbar wäre, sondern drei (entsprechend den Gruppen I, II, III nach Janszki, Blutkörperchenstrukturen O, A und B, bzw. Gruppen IV, II und III nach Moss). Daher kann kein einzelner Index, A:B oder b:a, wie Herr Kruse vorschlug, für eine Bevölkerungsgruppe charakteristisch sein, sondern nur zwei Indexziffern, etwa A:B und O:A. Das geht gerade auch aus den von Herrn Schütz uns hier neu vorgeführten Ziffern hervor.

Dann möchte ich im Sinne dieses Vorredners noch betonen, daß mir Massenuntersuchungen an dem Material unserer Großstadtkrankenhäuser und Universitätspolikliniken, auch wenn man die betreffenden Personen nach Geburtsort und Konfession einteilt, doch wenig wertvoll erscheinen — sie werden uns über die Rassenzusammensetzung Deutschlands kaum Neues lehren. Aber wichtig scheinen mir, trotz der großen Schwierigkeiten, gerade die Untersuchungen an altangesessener Dorfbevölkerung, wie sie uns eben Herr Schütz aus Angeln vorgeführt hat.

Bezüglich der Untersuchungen an Juden möchte ich doch sagen, daß nicht bestritten wird, daß sie eine Sonderstellung als Rassekonglomerat einnehmen, sondern nur, daß sie eine einheitliche Rasse sind. Und da haben neuerdings durch Hirschfeld in Polen bei der Aushebung angestellte Beobachtungen schon gezeigt, daß für die polnischen Juden der Index A:B wesentlich verschieden ist von dem für die mazedonischen Juden festgestellten. Auch dies ist ein Beispiel für die Notwendigkeit möglichster Trennung des Materials nach der Herkunft.

Voit (Göttingen): Um rassenmäßige Unterschiede zu erfassen, scheint es zweckmäßig, die Untersuchungen an stark differenten Rassegruppen anzustellen. Besonders geeignet wären Beobachtungen an der mongolischen Gruppe, wie sie vielleicht in der deutschen medizinischen Hochschule in Shanghai möglich wären.

Kruse (Schlußwort): Ich bezweifele nicht, daß bei weniger gemischten Bevölkerungen als in Groß- und Universitätsstädten die Zahl der zu Untersuchenden geringer sein kann, und begrüße es lebhaft, daß derartige Untersuchungen auch in abgeschlossenen Kreisen und Ständen gemacht werden. In der Methodik wird sich, wie gesagt, manches noch verbessern lassen; aber man ändere vorläufig nicht zu viel, um vergleichbare Ergebnisse zu erzielen (vgl. Sucker, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. S. 482).

Für die Sammlung des Materials und jede Auskunft stelle ich mich gern zur Verfügung, soweit möglich, auch mit Serumproben.

Schiff (Schlußwort): Eine systematische Blutgruppenuntersuchung innerhalb Deutschlands, wie sie heute Herr Kruse vorgeschlagen hat, ist bereits früher von

Steffan und kürzlich auch von mir und Ziegler[1]) gefordert worden. Eine derartige Untersuchung wird nur dann verwertbares Material liefern, wenn, wie das bei den Untersuchungen von L. und H. Hirschfeld der Fall war, mit einheitlicher Technik gearbeitet wird. Bei Untersuchungen innerhalb Deutschlands, wo nur kleine Unterschiede zu erwarten sind, ist eine einwandfreie Technik noch notwendiger als etwa bei einem Vergleich von Europäern, Indern und Negern. Die technischen Schwierigkeiten sind doch erheblich größer, als es nach den Ausführungen Kruses den Anschein haben könnte. Für Einzelheiten sei auf die Literatur, insbesondere auf die umfassende Monographie von Lattes[2]) verwiesen. Die Blutgruppenbestimmung auf Grund der Serumproben, die von der Wassermannschen Reaktion her zur Verfügung stehen, hat besondere Bedenken; unter diesen finden sich Säuglings- und bei manchem Material Nabelschnursera, die durchweg falsche Resultate geben. Ferner ergeben sich bisweilen Divergenzen bei gleichzeitiger Bestimmung des Typus aus den Blutkörperchen und dem Serum. Ich habe schon früher[3]) vorgeschlagen, in solchen Fällen grundsätzlich die Gruppenzuordnung nach dem Verhalten der Blutkörperchen vorzunehmen. Vor allem aber ist es notwendig, sorgfältig und nach einheitlichen Gesichtspunkten ausgewählte Testsera bzw. Testblutkörperchen zu verwenden. Es können sonst erhebliche örtliche Abweichungen einfach durch ungeeignete Testsera (Untergruppen! Landsteiner, v. Dungern und Hirschfeld, Guthrie und Huck) vorgetäuscht werden. In Ergänzung der bisherigen Vorschläge möchte ich empfehlen, auch die Blutkörperchen-eigenschaft C, die von Guthrie und Huck genau studiert worden ist, mit in den Bereich der Untersuchung einzubeziehen. Die Aufnahme würde an Wert dadurch sehr gewinnen, denn wir hätten dann an Stelle von zwei Merkmalen deren drei. Vielleicht würden sich dann bisweilen auch Unterschiede zwischen Bevölkerungsgruppen ergeben, welche sich hinsichtlich der Bluteigenschaften A und B gleichartig verhalten. Technisch wäre die Belastung kaum erheblich; notwendig wäre es aber, daß die Anti-C-Sera sehr sorgfältig geprüft und von einer Zentrale ausgegeben würden.

Vom anthropologischen Standpunkt aus ist bei der Bewertung der Blutmerkmale zu berücksichtigen, daß wir keinen Anlaß haben, Bluteigenschaften, eben weil es sich um „Blut" handelt, höher zu bewerten als andere Merkmale, die sich nach den gleichen Gesetzen vererben. Nur liegen bei den in erster Linie von der Anthropologie berücksichtigten Merkmalen, wie etwa Schädelform, Haar- und Augenfarbe, die Verhältnisse selten so übersichtlich. Eine Erhebung über die Verbreitung der Blutgruppen in Deutschland wird anthropologisch um so wertvoller sein, je mehr anthropologisches Vergleichsmaterial zur Verfügung steht. Nun ist Deutschland im ganzen zwar anthropologisch nicht sehr gründlich untersucht, gewisse Gegenden sind aber doch genauer durchgearbeitet, und es würde sich empfehlen, derartige Gebiete einer besonders gründlichen serologischen Erforschung zu unterziehen, wie denn auch umgekehrt von unserer serologischen Aufnahme die Anregung zur anthropologischen Durchforschung bestimmter Gebiete ausgehen könnte.

---

15. Vortrag. H. Braun (Frankfurt a. M.):

Allgemeines über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien.

Es hieße Eulen nach Athen tragen, wollte ich es vor Ihnen unternehmen, die Bedeutung der Physiologie pathogener Bakterien für Pathologie und Biologie zu begründen. Bei der Wichtigkeit derartiger Forschungen ist es um so auffälliger, daß bisher nur selten an pathogenen Bakterien systematische physiologische Untersuchungen durchgeführt worden sind. Der Grund dafür liegt zum Teil darin, daß

1) Klin. Wochenschr. 1924. Nr. 29.

2) Lattes, L'individualità del sangue. Messina 1923. B. Deutsche Ausgabe (b. J. Springer) im Erscheinen.

3) Vgl. Schiff und Adelsberger, Aerztl. Sachverständigen-Zeitung. 1924. Nr. 11.

es sich um mühsame, nicht immer praktische Erfolge zeitigende Arbeit handelt. Und doch muß unserer Meinung nach diese theoretische Arbeit geleistet werden.

Entsprechend der zentralen Stellung, welche der Stoffwechsel bei den experimentellen bakteriologischen Arbeiten einnimmt, muß der Ausgangspunkt physiologischer Untersuchungen bei pathogenen Bakterien die Ernährungsphysiologie sein. Ernährungsphysiologische Untersuchungen sind in den üblichen bouillonhaltigen Nährböden nicht leicht durchführbar. Sie sind zu kompliziert und, da sie aus Fleisch und anderen animalischen Stoffen bereitet werden, in ihrer Abhängigkeit vom jeweiligen Ausgangsmaterial so wenig konstant zusammengesetzt, daß dadurch die chemischen Verhältnisse des Bakterienstoffwechsels unübersichtlich werden.

Exakte Untersuchungen können mit Nährböden durchgeführt werden, die aus chemisch reinen Substanzen zusammengesetzt sind. Seit Pasteur, vor allem aber seit den Arbeiten von Uschinsky, C. Fraenkel und des Kochschen Instituts von Proskauer u. Beck, Proskauer und Capaldi, Lockemann fehlte es nicht an Untersuchungen in dieser Richtung. Hierher gehört z. B. auch die gründliche Arbeit von Seitz über die künstliche Lackmusmolke aus dem Institut von Reichenbach. Es blieb aber, soweit pathogene Bakterien in Betracht kommen, bei vereinzelten Arbeiten.

In den letzten Jahren habe ich mich zusammen mit einer Reihe von Mitarbeitern (Cahn-Bronner, Stamatelakis, Seigo Kondo, Henkel, R. Goldschmidt, Wolff, Speyer, Nakamura) mit der Ernährungsphysiologie pathogener Keime beschäftigt. Die Grundlage bildet der Verwendungsstoffwechsel der Keime, d. h. die Frage, aus welchen Stoffen und unter welchen besonderen Bedingungen können die verschiedenen Bakterienarten dauernd ihre Körpersubstanz aufbauen, wobei der Weg, auf dem die Assimilation der Nährstoffe vor sich geht, zunächst unberücksichtigt bleibt. Die Nährböden enthalten wenige einfach gebaute chemische Stoffe, sodaß ohne weiteres erhellt, wo die Phosphor-, wo die Stickstoff- und Kohlenstoffquelle und wo die Energiequelle zu suchen ist. So läßt sich zunächst für die einzelnen Arten das Unentbehrliche an Nährstoffen und das unmittelbar Angreifbare feststellen, indem man ihnen nur je eine Phosphor-, Stickstoff und Kohlenstoffverbindung bietet und dafür die einfachsten Substanzen aufsucht, mit welchen noch ein Aufbau der Leibesbestandteile gelingt . So lassen sich z. B. Coli-, Paratyphus-B-, manche Paratyphus-A- und Typhusbazillen im folgenden Nährboden züchten: H_2O, Kaliumbiphosphat, Ammoniumlaktat, O_2, mit Soda alkalisiert. —

Durch Aenderungen der chemischen und energetischen Bedingungen lassen sich dann die Ansprüche der verschiedenen Keime prüfen.

Wir haben uns besonders eingehend mit Typhus-, Paratyphus-A- und B-, Ruhr-Bazillen, Coli-Bakterien und mit den einzelnen Arten der Gruppe der säurefesten Bakterien beschäftigt.

Die Kürze der mir zur Verfügung stehenden Zeit gebietet es, mich sehr zu beschränken, und ich möchte mir deshalb erlauben, nur zwei Fragen zu erörtern, und zwar will ich zunächst die Prinzipien der von uns ausgearbeiteten Methodik besprechen und dann die Frage der individuellen Differenzen im Stoffwechsel bei verschiedenen Stämmen der gleichen Bakterienart behandeln.

Die Grundsätze unserer Methodik sind folgende:

1) Nur in flüssigen Nährböden aus den reinsten Substanzen und sorgfältigst destilliertem Wasser ist das Prinzip konstanter und bekannter chemischer Konstitution des Nährbodens, soweit dies überhaupt möglich ist, erfüllt, weil uns eine genügende Reinigung des Agar-Agars zur Herstellung fester Nährböden nicht gelang.

2) Zur Entscheidung der Frage, ob ein Bakterium aus den gebotenen Nährstoffen seine Leibessubstanzen dauernd aufzubauen imstande ist, muß unbedingt die Züchtung in mehreren hintereinander gelegten Passagen in demselben Nährboden erfolgen. Nur so ist man sicher, daß nicht Spuren eines komplizierten Nährsubstrates, die bei der Beimpfung gleichzeitig mit den Keimen in die einfachen Nährböden übertragen werden, oder Reservestoffe im Leibe der Bakterien, die aus der Zeit ihres Wachstums in anderen Nährböden stammen, hier mit zur Vermehrung beitragen. Man erlebt es öfters, daß die erste Passage in künstlichen Nährböden, ja sogar die ersten zwei und drei Passagen gelingen, und trotzdem ist ein dauerndes Wachstum nicht erzielbar.

3) Die Reaktion des Nährbodens muß mit noch größerer Peinlichkeit eingehalten werden, als es in den gewöhnlichen bouillonhaltigen Nährböden erforderlich ist, da sich die schädigende Säure- und Alkaliwirkung in den künstlichen Nährböden besonders bemerkbar macht. Das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration in den künstlichen Nährböden ist für die meisten bis jetzt von uns geprüften Bakterien um den Neutralpunkt gelegen (p_H 6,8—7,4).

4) Von wesentlicher Bedeutung bei der Züchtung in künstlichen flüssigen Nährböden ist die Sauerstoffzufuhr, ein Umstand, der von den meisten Autoren unberücksichtigt geblieben ist. Es hat sich herausgestellt, daß für das Wachstum in diesen flüssigen Nährböden, in denen die Mikroorganismen ausgedehnte Synthesen aus einfachen Substanzen vollziehen müssen, eine vermehrte Sauerstoffzufuhr von größter Bedeutung ist. In vielen dieser Nährlösungen können sich Keime auch solcher Arten, die wir als fakultative Anaerobier kennen, wie z. B. Coli-, Typhus- und Paratyphus-Bazillen, überhaupt nur dann kräftig und dauernd vermehren, wenn ihnen besonders viel Sauerstoff zur Verfügung gestellt wird. Das läßt sich erreichen durch Ausbreiten der Nährflüssigkeit zu einer flachen Schicht entweder am Boden kleiner Erlenmeyerkölbchen oder dadurch, daß man Reagenzröhrchen bei der Bebrütung im Brutschrank nicht stehend, sondern in schräger Lage hält. Zu diesem Zweck haben wir uns einfache Drahtkörbe konstruieren lassen, in denen die Röhrchen schräg liegend bebrütet werden können, ohne daß der Inhalt herausfließen kann. (Demonstration.)

Bei dieser Gelegenheit darf ich noch auf einen Umstand aufmerksam machen, der für die exakten ernährungsphysiologischen Untersuchungen wichtig sein kann, nämlich auf die Tatsache, daß manche Mikroorganismen, zu denen z. B. die säurefesten Bakterien gehören, mit den geringen Mengen stickstoff- und kohlenstoffhaltiger Verunreinigung der Brutschrankluft auskommen oder sie wenigstens mit verwerten können. Man muß deshalb bei der Untersuchung des Stoffwechsels auf diesen Umstand Rücksicht nehmen. Der Timotheebazillus kann z. B. die stickstoff- und kohlenstoffhaltigen Verunreinigungen der Luft assimilieren, und selbst der Tuberkelbazillus vermag gelegentlich, wenn auch sehr kümmer-

lich, mit den stickstoffhaltigen Substanzen der Brutschrankluft zu wachsen.

5) Was die Beimpfung betrifft, so muß sie hier in quantitativ größerer Menge erfolgen, als das sonst üblich ist. Man muß von Passage zu Passage 2—3 Oesen impfen. Und noch ein anderer Umstand ist beachtenswert. Impft man aus einem nährstoffreichen bouillonhaltigen Nährboden in einen künstlichen nährstoffarmen ab, so kann das Wachstum ausbleiben, während die Kultur angeht und in Passagen fortzüchtbar ist, wenn sie von einem nährstoffreicheren künstlichen Nährboden angelegt wurde. Bei der Untersuchung der Ernährungsphysiologie der Bakterien ist es deshalb ratsam, zunächst eine Anpassung der Mikroorganismen an einen geeigneten künstlichen Nährboden vorzunehmen und von diesem aus erst anders zusammengesetzte Nährflüssigkeiten zu beimpfen. Manchmal gelingt die Anreicherung der anspruchsloseren Keime auch dadurch, daß man in die betreffende Nährlösung aus dem bouillonhaltigen festen Nährboden reichlich Bakterien einsät, so daß sie bereits durch die Einsaat stark getrübt ist, und sie längere Zeit bebrütet. Durch Uebertragung jeweils kleinerer Einsaaten aus der Massenzucht in dieselben künstlichen Nährlösungen gelingt öfters die Passagekultur nach einiger Zeit.

Auf andere Einzelheiten der Methodik möchte ich hier nicht eingehen und nun die Frage der individuellen Differenzen im Stoffwechsel bei verschiedenen Stämmen der gleichen Art behandeln. Bei den Untersuchungen über den Verwendungsstoffwechsel der Bakterien stößt man öfters als dies bei der Untersuchung in den üblichen Nährböden der Fall ist, nicht nur auf Unterschiede zwischen den einzelnen Arten, sondern auf individuelle Differenzen. Diese Unterschiede beziehen sich einmal auf die Verwertung bestimmter Kohlenstoffverbindungen. So können z. B. einzelne Colistämme Zitronensäure bei Ammoniak als Stickstoffquelle verwerten, die meisten aber, wie Pesch feststellte, nicht. Gleiche Erfahrungen macht man bei Paratyphus-B-Bazillen und Coli-Bazillen mit Essig- oder Oxalsäure. Einzelne Stämme können mit diesen Säuren als einzige Kohlenstoffquelle auskommen, andere dagegen nicht. Bei säurefesten Bakterien, z. B. dem Typus humanus und Typus bovinus des Tuberkelbazillus, kann man solche Unterschiede gegenüber Essigsäure, Glyzerin und Traubenzucker feststellen. Einzelne Stämme können alle diese Stoffe als einzige Kohlenstoffquelle gut ausnutzen, andere verwerten besser die Essigsäure, wieder andere das Glycerin. Besonders prägnant sind die individuellen Differenzen der Stämme im Stickstoff-Stoffwechsel. Gerade in der Fähigkeit oder Unfähigkeit, das Ammoniak zu assimilieren, stoßen wir bei Typhus-, Paratyphus-A-, Shiga-Kruse-Bazillen, Colitis-Bazillen, auf tiefgreifende Differenzen, (Loghem, Kisch, Braun und Cahn-Bronner), indem einzelne Stämme Ammoniak als einzige N-Quelle verwenden, andere dazu nicht befähigt sind.

In ihrem Verhalten in den bouillonhaltigen Laboratoriums-Nährböden, in ihrer Tier-Virulenz und bei eingehender Prüfung ihrer agglutinatorischen Eigenschaften sind Unterschiede zwischen ammoniak-assimilierenden und ammoniak-nichtassimilierenden Stämmen nicht aufzufinden. Nur in der Fähigkeit, das Ammoniak zu assimilieren, weichen sie voneinander ab.

Es gelingt nun, experimentell zu erweisen, daß auch die ein-

zelnen Individuen eines und desselben Stammes verschiedene Fähigkeiten besitzen können. So lassen sich z. B. aus manchen ammoniak-nicht-assimilierenden Typhusstämmen durch das oben besprochene Verfahren der Massenkultur ammoniak-assimilierende Zuchten gewinnen. (Die ammoniak- oder nitrat-assimilierenden Kulturen eines Stammes sind für die Untersuchung des Verwendungsstoffwechsels einer Bakterienart von besonderer Bedeutung: denn, sobald eine komplizierte organische Stickstoffverbindung notwendig ist, stößt man, wenn die Nährtüchtigkeit einer Kohlenstoffverbindung geprüft werden soll, auf Schwierigkeiten, da ja dann immer mindestens zwei Kohlenstoffquellen, die zu prüfende und die Kohlenstoffkette der organischen Stickstoffverbindung gleichzeitig vorhanden sind.)

Die individuelle Befähigung einzelner Keime innerhalb eines Stammes erstreckt sich aber auch auf den Kohlenstoff-Stoffwechsel. So läßt sich z. B. gelegentlich nachweisen, daß in ammoniak-assimilierenden Typhusstämmen Individuen vorhanden sind, welche Zitronensäure verwerten können, und solche, welchen es unter den gegebenen Verhältnissen unmöglich ist.

Trotz dieser Schwankungen assimilatorischer und dissimilatorischer Funktionen sind aber die Stämme und Keime in den meisten anderen ernährungsphysiologischen Eigenschaften so typisch, daß an ihrer Zugehörigkeit zu ein und derselben Art kein Zweifel bestehen kann.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß keineswegs alle Stoffwechseleigenschaften einer Art schwanken und deshalb zur systematischen Verwendung unbrauchbar sind, sondern nur einzelne. Es müssen vielmehr bei jeder Bakterienart unter den ernährungsphysiologischen Eigenschaften unterschieden werden:

1) solche, die immer vorhanden sind,
2) solche, die niemals vorhanden sind, und
3) solche, die schwanken, die also vorhanden sein oder fehlen können.

Erst durch alle drei Kategorien von Eigenschaften ist die Art charakterisiert und alle drei Merkmale sind jedesmal festzustellen, wenn Stoffwechselunterschiede als Artunterschiede gewertet werden sollen. Geht man in dieser Weise vor, so überzeugt man sich — da auch die Unbeständigkeit einer bestimmten Eigenschaft für die Art charakteristisch ist, — von der Konstanz der Art. So lehren unsere Versuche, daß bei einzelligen Lebewesen, wie den Bakterien, individuelle Besonderheiten ebenso vorkommen, wie bei den Metazoen, ohne daß dadurch der Artcharakter verloren geht.

Aussprache.

Weichardt (Erlangen): Feinere Reaktionen, auch über Immunvorgänge, kann man nur bei Verwendung chemisch definierbarer Nährböden, wie wir es getan haben, ergründen. — Wäßrige Auszüge sind meist ein derartiges Konglomerat von schlecht definierbaren Faktoren, daß ein exaktes Arbeiten auf diesem Gebiete in seltenen Fällen möglich ist.

Wir haben also zu chemisch definierbaren Nährböden abiurete alkohol-wasserlösliche Extrakte aus dem Tierkörper gefügt. Man kann zeigen, daß, wenn z. B. Diphtheriebazillen eingesät werden, die verschiedenen Fermentfunktionen dieser Bazillen in ganz verschiedener Weise beeinflußt werden, z. B. in bestimmten Konzentrationen die Vermehrung anders als die Giftbildung usw.

Besonders interessant erschien es, daß die Fermente von ganz geringen Mengen dieser abiureten Extraktstoffe, die als Nährsubstanzen gar nicht mehr in Betracht kommen, charakteristisch beeinflußt werden können, und zwar so, daß sie bestimmte Gruppen, wie z. B. das Natrium asparaginicum, das von vielen Diphtheriebazillenstämmen schlecht oder gar nicht verwertet wird, nun plötzlich stark assimilieren und sich auf ihm vermehren. Derartige Studien scheinen mir für die Beurteilung vieler Infektionsvorgänge von außerordentlicher Wichtigkeit.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich Sie noch auf eine Tatsache hinweisen, die an sich schon bekannt ist, aber jetzt in neuer Beleuchtung erscheint. Viele Erreger, die wasserlösliche Gifte produzieren, wie die Diphtheriebazillen, bringen auch stark nekrotisierende Anteile hervor. Es ist also diesen Erregern am Orte ihres Wachstums neben anderen Nährstoffen zugleich ein reicher Bestand an aktivierenden Spaltprodukten sichergestellt. Diese sind für das Wachstum und den übrigen Stoffwechsel dieser Parasiten von großer Bedeutung.

Gins (Berlin): Die Ausführungen von Herrn Braun scheinen mir von weitgehender Bedeutung für die allgemeine Bakteriologie zu sein, denn sie können zum Ausgangspunkt für eine endliche Verbesserung der Nährböden werden, die noch immer recht mangelhaft genannt werden müssen. Noch immer klafft der große Unterschied zwischen den Bakterien im Organ und in der Kultur. So z. B. zeigt der Diphtheriebazillus in der Kultur doch eine ganz andere Morphologie als im Gewebe. Augenscheinlich sind wir noch ziemlich weit von dem idealen Ziel entfernt, jedem pathogenen Keim das ihm auf Grund seines Stoffwechsels am besten zusagende Substrat zur Verfügung stellen zu können.

---

16. Vortrag. Worms (Berlin-Dahlem):

Experimentelle Untersuchungen mit Stovarsol.

Die praktisch so wichtige Frage einer internen, oralen Syphilisprophylaxe hat neuerdings durch die Arbeiten Levaditis und seiner Mitarbeiter (Fournier, Navarro-Martin, Tréfouel, A. Schwartz) über das Stovarsol besonderes Interesse gewonnen. Schon im Jahre 1908 war durch die Arbeiten von Uhlenhuth, insbesondere durch den Nachweis einer erfolgreichen prophylaktischen Verfütterung von Atoxyl an mit Hühnerspirochäten geimpfte Hühner dieses Problem angebahnt worden, und in neuerer Zeit haben — allerdings vergeblich — Sazerac und Levaditi durch Wismutsalz-Verfütterung an Kaninchen die Syphilisinfektion dieser Tiere zu verhüten gesucht.

Als Voraussetzung für die Durchführbarkeit einer internen Syphilisprophylaxe ist zu fordern, daß das per os dem Körper einverleibte Schutzmittel, auch wenn es häufig und längere Zeit regelmäßig genommen wird, unschädlich ist. Es darf ferner weder eine Speicherung im pharmakologischen noch eine Gewöhnung im chemotherapeutischen Sinne zur Folge haben.

Als ein derartiges, unter der Aufsicht des Arztes zu nehmendes Schutzmittel wird nun von Levaditi das Acetylderivat der Oxyaminophenylarsinsäure empfohlen, das von Tréfouel nach Anweisung von Fourneau hergestellt ist. Dieses Prophylacticum wird von der Pariser Firma Poulenc-Frères unter dem Namen „Stovarsol“ in den Handel gebracht und in Deutschland von dem Pharmazeutischen Versandhaus Berlin NW. vertrieben. Diesem Präparat entspricht chemisch das 594. Präparat der Ehrlichschen Reihe, das unter dem Namen Spirocid von den Höchster Farbwerken hergestellt wird.

Die französischen Autoren haben mit Stovarsol im Tierversuch bei Fütterung eine auffallend günstige prophylaktische und therapeu-

tische Wirkung dieses Mittels beobachtet und bei ihren Versuchen einen sicheren kurativen und prophylaktischen Erfolg noch mit der Minimaldosis von 0,15 bzw. 0,16 g pro Kilo Kaninchen erzielt. Diese Befunde ließen eine experimentelle Nachprüfung notwendig erscheinen.

Meine tierexperimentellen Untersuchungen konnte ich zunächst mit einem Originalpräparat von Stovarsoltabletten der Pariser Firma aufnehmen; im weiteren Verlauf wurden die Versuche auch auf Stovarsol- und Spirocidpulver ausgedehnt.

Mit Rücksicht auf die beschränkte Zeit kann ich hier nur ganz kurz zusammenfassend über die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungen berichten. Was zunächst die therapeutischen Versuche anlangt, so hat sich dabei hinsichtlich des Stovarsols bei der anthropogenen experimentellen Kaninchensyphilis (Truffi-Stamm, sowie an dem Pallida-Stamm des Reichsgesundheitsamts) bisher ergeben, daß weder Dosen von 0,125 g, noch von 0,25 g, noch von 0,33 g pro Kilo, abgesehen von einem Tier, das mit 0,25 g pro Kilo behandelt war, ausreichten, um bei den erkrankten Kaninchen ein völliges Verschwinden der klinischen Erscheinungen herbeizuführen. Ob es sich bei dem einen Tier, bei dem mit 0,25 g pro Kilo ein völliges Verschwinden aller klinischen Erscheinungen erreicht worden ist, um eine tatsächliche Heilung handelt, muß die weitere Beobachtung ergeben, da die bisherige 30tägige Beobachtungszeit nach der Behandlung noch zu kurz ist, um die Möglichkeit von Rezidiven auszuschließen und ein endgültiges Urteil abzugeben[1]). Es wurde also bisher, von diesem einen Tier abgesehen, abweichend von den von Levaditi erhaltenen Befunden, bei den in diesen Versuchen benutzten Stämmen eine Beseitigung der Krankheitserscheinungen nicht erreicht, selbst nicht mit Gaben, welche die minimalen kurativen Dosen dieses Autors wesentlich übertrafen. Die Infektion der Tiere war bei diesen Versuchen in der üblichen Weise teils subskrotal teils auch intratestal erfolgt.

Bei den therapeutischen Versuchen mit Spirochaeta cuniculi wurden Kaninchen verwendet, die gleichzeitig am Oberlidrand beider Augen sowie am Damm, Genitale und Anus infiziert worden waren und an diesen Stellen deutliche, reichlich spirochätenhaltige Papeln hatten. In dieser Weise konnte zur Sicherstellung des Behandlungseffektes die Untersuchung auf Spirochäten an drei räumlich voneinander getrennten Stellen ausgeführt werden. Dadurch, wie auch namentlich infolge ihrer oberflächlichen Lage, sind die durch Spir. cuniculi gesetzten Krankheitsveränderungen für solche Versuche besonders geeignet. Sie erleigchtern den Spirochätennachweis und liefern insofern ein günstigeres Untersuchungsmaterial, als es die Orchitiden der mit anthropogenen Stämmen infizierten Kaninchen bieten. Dazu kommt, daß der benutzte Cuniculi-Stamm eine relativ kurze Inkubationszeit hat und bei Glaskapillarverimpfung in 100 Proz. haftet. Bei diesen Untersuchungen ergab sich nun ebenfalls, daß Gaben von 0,125 g Stovarsol pro Kilo weder zur Beseitigung der klinischen Erscheinungen noch zur Beseitigung der Spirochäten ausreichten. Auch unter 6 Versuchen mit Gaben von 0,25 g pro Kilo wurde nur dreimal eine Beseitigung der klinischen Erscheinungen und der Spirochäten erreicht, es bleibt dabei ebenfalls dahingestellt, inwieweit bei diesen Tieren

1) Das betreffende Tier zeigte 12 Wochen nach der Behandlung einen erbsengroßen Spirochäten-haltigen Schanker.

noch mit der Möglichkeit von Rezidiven zu rechnen ist[1]). Bei den unbeeinflußt gebliebenen Tieren war in dieser Versuchsreihe auch eine zweite Verabfolgung der Dosis von 0,25 g pro Kilo in gleicher Weise unwirksam. Zwei Tiere, welche die hohe Dose von 0,33 g pro Kilo Stovarsol erhalten hatten, waren dagegen vom 3. Tage nach der Behandlung erscheinungs- und spirochätenfrei geworden und sind dies in 41tägiger Beobachtungszeit bis jetzt geblieben. Zusammenfassend ergibt sich aber auch aus diesen Versuchen, daß die dabei erhaltenen Ergebnisse ebenfalls weniger günstig sind, als sie von Levaditi und seinen Mitarbeitern beobachtet wurden. In gewisser Hinsicht entsprechen die bei diesen therapeutischen Versuchen erhaltenen Ergebnisse den in der Praxis gemachten Beobachtungen, indem hier Levaditi selbst ebenfalls über Rezidive berichtet, ebenso Nicolau und andere Autoren. Pinkus konnte bei schon überhäuteten Papeln noch lebende Spirochäten nach Aufkratzen der Papeln nachweisen.

Mit Spirocid habe ich bisher nur eine therapeutische Versuchsreihe aufnehmen können, bei der zwei Tiere auff eine Gabe von 0,25 g pro Kilo erscheinungs- und spirochätenfrei wurden und bisher während einer Beobachtungsdauer von 30 Tagen frei geblieben sind. Auch bei diesen Tieren wird zunächst der weitere Verlauf abzuwarten sein[2]).

Was die Untersuchungen Levaditis und seiner Mitarbeiter hinsichtlich der prophylaktischen Wirkung des Stovarsols anlangt, so haben diese Autoren an Kaninchen solche Versuche schon mit Dosen von 0,16 pro Kilo erfolgreich durchgeführt. Ich möchte aber bemerken, daß besondere Angaben über Kontrollen bei diesen Versuchen sowohl bezüglich des Truffi-Stammes wie auch bezüglich der Infektion durch den Deckakt mit dem sog. neurotropen Pallida-Stamm nicht mitgeteilt sind. Für meine Prophylaxeversuche benutzte ich zunächst Kaninchen, die mit Spirochaeta cuniculi infiziert wurden, weil gerade dieser Stamm sich für solche Versuche aus den oben angeführten Gründen besonders eignet. Die Tiere wurden durch die Glaskapillarverimpfungsmethode, die, wie erwähnt, 100 Proz. positive Impfergebnisse liefert, am Oberlidrand beider Augen, sowie am Genitale, Damm und Anus geimpft und 2 Stunden nachher mit Stovarsol und Spirocid gefüttert. In der ersten Versuchsreihe erkrankten die Kontrollen nach 24 Tagen mit spirochätenhaltigen Erscheinungen am Genitale; an den Oberlidrändern konnten bisher nur kleine punktförmige Verdickungen wahrgenommen werden, die aber noch keine Spirochäten enthielten. Es ist dies der meist übliche Verlauf, da die Impfung an den Augenlidrändern in der Regel beträchtlich später angeht als die Inokulation am Genitale. Die Versuchstiere, die in gleicher Weise geimpft und zwei Stunden später mit je 0,25 g Stovarsol bzw. Spirocid pro Kilo gefüttert wurden, zeigten bisher keine Erscheinungen Trotzdem halte ich es für noch nicht erwiesen, daß tatsächlich eine Infektionsverhütung stattgefunden hat; denn abgesehen davon, daß auch hier die bisherige Beobachtungszeit verhältnismäßig noch kurz ist, konnte ich in einer zweiten gleich angelegten Versuchsreihe die Beobachtung machen, daß ein Versuchstier, das 0,125 g pro Kilo Spirocid, und ein Versuchstier, das selbst die hohe Dosis von 0,33 g pro Kilo Stovarsol erhalten hatte, nach dem gleichen Zeitraum wie die Kontrolltiere spirochätenhaltige Krankheitserscheinungen am Genitale aufwiesen.

1) Auch von diesen 3 Tieren ist ein Tier 9 Wochen nach der Fütterung mit einem Spirochäten-haltigen Rezidiv erkrankt.

2) Das eine dieser Tiere, das mit dem Stamm des Reichsgesundheitsamtes infiziert war, bekam 3 Monate nach der Behandlung ein Rezidiv.

Ein abschließendes Urteil möchte ich auf Grund meiner bisherigen Beobachtungen heute noch nicht abgeben, sondern dafür die Ergebnisse noch weiterer Versuchsreihen abwarten, die mit Stovarsol und Spirocid nun auch unter Verwendung eines besonders geeigneten anthropogenen, bei kutaner Impfung regelmäßig haftenden Pallida-Stammes aufgenommen werden konnten[1]). Es schien mir aber doch angezeigt, schon jetzt hier auf die mitgeteilten Befunde hinzuweisen, da sie gegenüber der stark anpreisenden Empfehlung und im Hinblick auf die bei den Tierversuchen auch hervorgetretene beträchtliche Giftigkeit des Präparates hinsichtlich einer allgemeineren Anwendung des Stovarsols zu prophylaktischen Zwecken zu einer gewissen Vorsicht mahnen und zunächst eine weitere experimentelle Erprobung auch unter Berücksichtigung des deutschen Präparates Spirocid notwendig erscheinen lassen, da dieses Präparat sich bei unseren Versuchen als dem Stovarsol mindestens gleichwertig erwiesen hat.

Aussprache.

J. Schumacher (Berlin): Auf Grund rein theoretischer Erwägungen wird das Stovarsol als V-wertiges Arsenpräparat zu prophylaktischen Zwecken abgelehnt, da die optimale Heilwirkung der Arsenpräparate darauf beruht, daß die Oxydationsprodukte des III-wertigen Arsenrestes in Reaktion treten mit der lebenden Spirochäte (s. Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 145. S. 364), andererseits aber die Resorption und Umwandlung des V-wertiges Arsen enthaltenden Stovarsols in vivo von verschiedenen Faktoren abhängt, durch die gleichzeitig beginnende Ausscheidung nur ein Teil des zugeführten Präparates zur Wirkung kommen kann und diese daher eine unsichere, manchmal vom Zufall abhängige sein muß, da individuelle Verschiedenheiten der Resorption, Umwandlung und Ausscheidung des Präparates dabei sicherlich eine gewisse Rolle spielen. Der Vorteil der Verwendung III-wertiger Arsenpräparate besteht ja gerade darin, daß Ehrlich durch Umwandlung der V-wertigen Arsenpräparate in III-wertige dem Organismus diese Arbeit erspart hat. (Siehe auch „Zur Stovarsolfrage", Dermat. Wochenschr. 1924.)

Reiter (Dahlem): Anfang 1922 fragte Geheimrat von Wassermann bei der Firma Casella in Frankfurt an, ob sie bereit sei, gemeinsam mit ihm den Versuch zu machen, ein Präparat zu finden, daß die Möglichkeit bot, der syphilitischen Erkrankung auf peroralem Wege vorzubeugen. Die Firma sagte zu und betraute Herrn Dr. Benda, den bekannten langjährigen Mitarbeiter von Paul Ehrlich, mit der Aufgabe. v. Wassermann und Ficker übernahmen die biologische Prüfung der von Benda hergestellten Präparate. Im August 1923 trat ich, nach Verzug von Herrn Ficker ins Ausland, in die Mitarbeit ein. Aus der großen Zahl von Präparaten, die in den Versuch genommen wurden, blieb eine kleine Gruppe übrig, die Erfolg in der erstrebten Richtung versprach. Geprüft wurde besonders bei peroraler Applikation an Mäusen, Kaninchen, Affen und in letzter Zeit am Menschen. Die Präparate gehören zu den organischen Arsenverbindungen. Ihre genaue Zusammensetzung zu geben, erscheint zurzeit noch verfrüht.

Unsere bis heute gewonnenen Erfahrungen, verglichen mit dem Stovarsol, sind die folgenden: Die Dosis letalis an der Maus liegt höher als die des Stovarsols; beim Kaninchen liegt sie niedriger, wobei aber berücksichtigt werden muß, daß Kaninchen auf beide Präparate auffallend verschieden reagieren. Während es mit Stovarsol nicht gelang, syphilitische Kaninchen innerhalb der Unschädlichkeitsgrenzen regelmäßig zu heilen, solche Heilungen sogar zu den Seltenheiten gehörten, wurden mit unseren Präparaten die Tiere geheilt und blieben bei monatelanger Kontrolle rezidivfrei. Eine gewisse Verschiedenheit im Ausfall der Wirkung der einzelnen Präparate liegt einerseits in der verschiedenen Empfindlichkeit der Kaninchen den Arsenpräparaten gegenüber, andererseits aber auch im Modus der peroralen Applikation begründet.

---

1) Ich möchte hier nicht verfehlen, Herrn Prof. Nichols (Washington) für die freundliche Ueberlassung des Stammes auch an dieser Stelle besonderen Dank auszusprechen, ebenso dem Herrn Chefarzt der Hamburg-Amerika-Linie, Dr. Günther und Herrn Schiffsarzt Dr. Hansen für ihre freundliche Bemühung bei der Ueberbringung des Stammes.

Noch mehr zugunsten unserer Präparate sprechen die Ergebnisse der prophylaktischen Versuche. Es gelang regelmäßig, noch 3—4 Tage nach der Infektion die Tiere vor dem Ausbruch der Infektion zu bewahren, wobei stets ein biologisch äußerst hochwertiger Stamm, der in 100 Proz. haftete, zur Verwendung kam. Bei Austitrierung der prophylaktischen Dosis wurde vereinzelt beobachtet, daß bei Unterbehandlung der Infektion besonders schwere klinische Bilder erzeugte, eine Tatsache, auf die bekanntlich Mulzer zuerst hinwies. Ferner ergab sich, daß eine kurze, zeitlich zusammengelegte Dosierung, eine bessere Wirkung hatte, als eine über 4—5 Tage (3—4 Tage nach der Infektion begonnene) länger hingezogene Prophylaxe. Beide Erscheinungen werden für die Praxis weitgehend berücksichtigt werden müssen.

Am Menschen wurden bei der bisher geübten Dosierung keinerlei Gesundheitsschädigungen festgestellt.

Wir glauben die berechtigte Hoffnung aussprechen zu können, daß wir noch im laufenden Jahr über ein deutsches Präparat verfügen, das dem alten Präparat Ehrlichs 594, welches er selbst aus bestimmten Gründen unberücksichtigt ließ, deutlich überlegen ist und sich für die Syphilisprophylaxe, für die allein es gedacht ist, gut bewährt.

Kolle (Frankfurt a. M.): Mit Stovarsol haben wir im Georg-Speyerhaus auch seit längerer Zeit Versuche eingeleitet. Sie sind aber noch nicht abgeschlossen; ich möchte deshalb nicht weiter darauf eingehen, sondern nur folgendes bezüglich der allgemeinen Gesichtspunkte sagen.

Fourneau hat behauptet, daß er zuerst das Stovarsol 3-Acetyl-amino-4-oxy-phenyl-arsinsäure chemisch rein hergestellt hat, und hat sich auf den von Ehrlich für dieses Produkt (Präparat 594 des Georg-Speyerhauses) angegebenen Titer berufen. Die Unterschiede in dem Titer liegen aber in dem zur Auswertung benutzten Stamme. Wir haben die Versuche wiederholt und konnten feststellen, daß die Ehrlichsche Verbindung 594, die noch im Speyerhaus vorhanden war, genau denselben Index wie die Fourneausche besaß, und daß sie auch in der absoluten Heildosis sich gleich verhielt. Diese Verbindung ist, wie alle Arsinsäuren, kristallinisch. Schon daraus kann man erwarten, daß sie rein ist. Aber auch die chemische Untersuchung hat ergeben, daß es sich um eine vollkommen reine Verbindung handelt. Die Arsinsäuren sind aber von Ehrlich nicht empfohlen worden für die Therapie der Trypanosomen- und Spirochätenkrankheiten, weil ihre Wirksamkeit hinter der der Arsenbenzole und der Arsinoxyde zurücksteht. Wenn die Präparate per os stärkere Wirksamkeit haben sollen, so kann es sich also nicht um die Wirkung von Arsinsäuren handeln, sondern diese werden im Darm oder Leber reduziert. Jedenfalls muß die ganze Frage erst geklärt sein, ehe man ein solches Mittel in großem Umfange zur Prophylaxe der Syphilis empfiehlt. Auf die Angaben, die Herr Reiter über ein Syphilisprophylaktikum von Wassermann gemacht hat, halte ich es für unnötig, hier einzugehen, da er weder Protokolle mitgeteilt noch angegeben hat, um welche Substanz es sich handelt.

Uhlenhuth (Freiburg i. B.): Bezüglich der Präventivbehandlung möchte ich daran erinnern, daß ich diese Methode, die bei den Tierexperimenten der letzten Jahre viel zu wenig berücksichtigt worden ist, in meinen Arbeiten über die Chemotherapie der Trypanosomen und Spirochätenkrankheiten stets mit herangezogen habe. Sowohl bei Dourine[1]), Recurrens, Hühnerspirillose und Syphilis habe ich mit organischen Arsen-(und Antimon-)Verbindungen an Mäusen, Ratten, Kaninchen und Affen gearbeitet und diese Methode für die Beurteilung der chemotherapeutischen Wirkung als besonders wertvoll erkannt. Bei Syphilis sind diese Versuche mit Rücksicht auf ihre praktische Bedeutung zusammen mit Hoffmann, Weidanz, Roscher, Manteufel und Mulzer zum größten Teil schon im Jahre 1907—1908 ausgeführt. Schon bei den ersten Versuchen, die die experimentelle Grundlage für die Arsenbehandlung der Syphilis gelegt haben, konnten wir zunächst bei Affen feststellen, daß bei keinem der vom Tage der Impfung an behandelten Tiere ein

1) Arbeiten aus dem Reichsgesundheitsamt. Bd. 27. Nr. 2; Bd. 29. 1908. Nr. 2. Dtsch. med. Woch. 1907. Nr. 4.

(Siehe genauere Literatur in meinem Buche „Experimentelle Grundlagen der Chemotherapie der Spirochätenkrankheiten, mit besonderer Berücksichtigung der Syphilis", gesammelte Abhandlungen. Urban und Schwarzenberg, Berlin.)

Primäraffekt auftrat (Dtsch. med. Woch. 1907, 22 und 30). Unabhängig davon haben Metschnikoff und Salmon diese selbe Beobachtung gemacht. Bei mit syphilitischem Virus ins Auge geimpften Kaninchen konnten wir dann zeigen, daß auch bei keinem der vom Tage der Impfung an mit Atoxyl eingespritzten Kaninchen sich eine syphilitische Keratis entwickelte, während die Kontrollen erkrankten. Es gelang also in diesen Versuchen, den Ausbruch der Krankheit zu verhüten, allerdings bei Anwendung mehrerer Einspritzungen (Dtsch. med. Woch. 1908, 20). Demgegenüber wurde festgestellt, daß das Quecksilber eine derartige präventive Wirkung nicht entfaltet (s. auch A. Neisser).

Die Präventivbehandlung wurde in unsern früheren Versuchen meist subkutan oder ip. durchgeführt, aber auch per os habe ich bei Dourine an Kaninchen und Ratten gezeigt, daß eine Präventivbehandlung möglich ist. Besonders elegant waren die Versuche bei Hühnerspirillose (mit Groß, Arb. aus dem RGA. Bd. 27, 2). Es wurden z. B. sechs Hühner infiziert; vier wurden sofort mit 0,1 g Atoxyl per os behandelt. Die Tiere blieben dauernd gesund, während die zwei Kontrollen erkrankten und starben. Hier genügte bereits eine Dosis zur Präventivbehandlung. Aehnlich war das Resultat eines anderen Versuchs. Das liegt z. T. daran, daß bei der Hühnerspirillose uns die Natur durch Erzeugung einer gleichzeitig auftretenden aktiven Immunisierung infolge der Abtötung der Spirochäten durch das Atoxyl zu Hilfe kommt. Immerhin waren diese Versuche so augenfällig, daß ich mit Hoffmann daran ging, „die Brauchbarkeit der Verabreichung des Atoxyls per os und per rectum nach den Erfahrungen, die ich bei der Hühnerspirillose gemacht hatte", zu versuchen (Dtsch. med. Woch. 1907, 2). Jedoch sind diese Versuche nicht weiter verfolgt worden. Vielleicht deshalb, weil die Immunisierung per os wegen der Schwierigkeit der Dosierung unberechenbar ist. An sich ist es von vornherein sehr wohl möglich, daß die geringe Zahl von Spirochäten, die die erste Infektion bedingen, bei Verabreichung des Mittels bald nach der Infektion schnell abgetötet werden.

Ich möchte dazu bemerken, daß unsere prophylaktischen Versuche, d. h., wenn das Mittel vor der Infektion gegeben wurde, negativ ausfielen. Ich nehme bekanntlich an, daß erst gewisse Beziehungen zwischen den Parasiten und der Körperzelle vorhanden sein müssen, ehe das Präparat seine Wirkung entfaltet. Zweckmäßig wären Versuche beim natürlichen Uebertragungsmodus. Es kommt da nur die Kaninchenspirochätose in Betracht, die spontan durch den Koitus übertragen wird. Eine natürliche Infektion auf diesem Wege bei Kaninchensyphilis ist mir mit Mulzer bei den uns zur Verfügung stehenden Stämmen in zahlreichen Versuchen niemals gelungen. Ob man hier auch mit einer Dosis von Salvarsan zum Ziele kommt, erscheint mir auch zweifelhaft.

Bei der per os-Verabreichung prophylaktischer, chemotherapeutischer Mittel beim Menschen muß auf die große Gefahr der „Unterbehandlung" hingewiesen werden, die zu Nervensyphilis usw. führen kann, denn die Mittel lassen sich, wie gesagt, per os sehr schwer dosieren. Auch bei der Schlafkrankheit hat die Verabreichung des Atoxyls per os, wie es scheint, versagt.

Was das Stovarsol selbst betrifft, das mit großer Reklame in die Welt gesetzt ist, so scheint mir durch die Franzosen noch keine genügend ausreichende tierexperimentelle Grundlage gelegt zu sein, was auch die Versuche von Herrn Worms beweisen.

Manteufel (Dahlem): Die Ergebnisse von Worms sollen und können natürlich nicht beweisen, daß die günstigeren Ergebnisse von Levaditi und seinen Mitarbeitern unrichtig sind. Es soll nur der Schluß gezogen werden, daß die Verschiedenheiten der Pallidastämme die Zuverlässigkeit der Therapie und Prophylaxe mittels dieses peroralen Mittels doch sehr in Frage stellen können. Es scheint mir daher zunächst noch zweifelhaft, ob die experimentellen Grundlagen der Stovarsolprophylaxe derart sichere sind, daß sich in Deutschland eine so eindringliche Reklame für diese Schutzmittel rechtfertigen läßt. Noch fraglicher erscheint aber der Umstand, ob man die weitere Einführung eines französischen Erzeugnisses unter den gegenwärtigen Verhältnissen rechtfertigen kann, das in Deutschland anscheinend in gleicher Beschaffenheit vorhanden ist und sich nach den Ergebnissen von Worms im Versuch mindestens nicht unbrauchbarer gezeigt hat als das Stovarsol.

17. Vortrag. Rhoda Erdmann (Berlin):

Die Eigenschaften in vitro gezüchteter Stromazellen des Flexner-Jobling-Karzinoms.

Schon Ribbert machte darauf aufmerksam, daß das Stroma der menschlichen Tumoren sehr spärlich ist. Alle Impfkrebse, und es handelt sich ja um Tierkrebse, zeigen dagegen eine reichliche Stromabildung. Doch sind hier auch Unterschiede; je kleiner das Tier ist, welches den Tumor trägt, je spärlicher ist der bindegewebige Bestandteil des Karzinoms. Diese Tatsache hat in den letzten 30 Jahren keine besondere Beachtung gefunden und erst durch die Möglichkeit, Karzinome und Sarkome außerhalb des Körpers zu züchten, ist es technisch denkbar, die Eigenschaften des Stromas kennen zu lernen und sie von denen der Karzinomzellen zu trennen.

Ich habe schon verschiedene Male über die Züchtung von Karzinomen und Sarkomen berichtet[1, 2, 3]). Daher fasse ich kurz zusammen, was ich bisher an Tatsachenmaterial gefunden. Man kann **Sarkom**zellen der Säugetiere vier bis acht Wochen lang außerhalb des Körpers züchten. Eine fortlaufende jahrelange Züchtung ist bis jetzt noch nicht ausgeführt, aber nach meinen Erfahrungen möglich, wie sie für die Bindegewebszellen ein leichtes, für die Epithelzellen etwas schwieriger ist. Die grundlegenden Untersuchungen Carrels und die glückliche technische Meisterschaft von Ebeling und Fischer lösten diese Aufgabe restlos auch für das Vogelgewebe. Doch berichtet A. Fischer von fortlaufender Züchtung des Peyton-Rous'schen Hühnersarkoms. Dieser Tumor gehört zu den Granulomen, wird durch ein Virus ohne Zellmaterial übertragen, vielleicht ist daher seine leichte Züchtbarkeit erklärbar.

Ich selbst habe, um die engeren Bedürfnisse des Mediziners zu befriedigen, ganz besonders Säugetiergewebe gezüchtet und auf dem Anatomenkongreß 1924 in Halle gezeigt, wie Kulturen von embryonalem Meerschweinchengewebe, sei es Bindegewebe oder Epithel, oder erwachsenes Meerschweinchengewebe, wie die Zellen des blutbildenden Systems oder des Mesenchyms mit seinen Abkömmlingen. Mir ist es eine große Freude, daß ich jetzt noch einen Gedanken des Herrn Geheimrats J. Orth ausführen konnte, der immer wieder die Notwendigkeit der Züchtung des Säugetiergewebes für den experimentellen Pharmakologen, Bakteriologen und Serologen usw. hervorhob. Es ist sehr bedauerlich, daß ich bis jetzt keine Gelegenheit gehabt habe, dieser Versammlung einen Ueberblick über den Stand der Züchtung normaler Gewebe zu geben. Das wäre notwendig, um die Züchtung erkrankter Gewebe zu verstehen. Ich hoffe, daß die Gesellschaft mir in einer der nächsten Tagungen Zeit und genügend Raum gibt, den Stand der Gewebezüchtung zu erläutern und Ihnen eine Fülle von Präparaten zu zeigen.

Mit diesem Vorbehalt wage ich weiter über die Stromazüchtung zu berichten. Ich konnte also leicht Sarkomzellen in vitro wochenlang in Plasma und Extrakt des erkrankten Tieres züchten. So gezüchtete Sar-

1) Zeitschrift für Krebsforschung. Bd. 20. 1923. S. 322.
2) Medizinische Klinik. Nr. 30. 1923.
3) Strahlentherapie. Bd. XV. 1923.

kome gehen, wieder implantiert, an und wachsen nach einer Latenzzeit zu der dem Tumor eigenen Größe heran.

Nicht so glücklich war ich bei Karzinomen. Ich ging von dem Gedanken aus, daß die Karzinomzellen, die zu hemmungslosem Wachstum im Körper befähigt sind, diese Eigenschaft auch außerhalb des Körpers behalten müßten und wieder eingepflanzt in den Tierkörper, sich ohne weiteres zu Tumoren entwickeln würden. Dies war ein Fehlschluß; Karzinomzellen rein gezüchtet und in den Tierkörper wieder eingepflanzt, einerlei ob sie in gesundem oder erkranktem Plasma gezüchtet wurden, ergaben keine Tumoren. Züchtet man aber Stroma und Karzinomzellen zusammen für nicht allzu lange Zeit in Tumorplasma, so entstehen Tumoren, die zwar niemals bei der Ueberimpfung zu der Größe des Ausgangstumors heranwuchsen, aber doch vollkommen den Charakter des Ausgangstumors bewahrten und bei einer gewöhnlichen Ueberimpfung auch wieder Karzinome mit der für den Tumor benutzten eigenen Größe erzeugten. Karzinom- und Stromazellen in normalem Plasma gezüchtet, ergaben nie Tumoren. Dies für jetzt nur nebenbei. Ich verfolgte nun die eine Seite dieser Problemstellung und versuchte mit Hilfe von Herrn Dr. Schmerl Stroma allein zu züchten. Wir konnten in der ersten Zeit unserer gemeinsamen Versuche überhaupt nicht Stroma allein darstellen. Immer, auch nach 14 Tagen, wie das ausgestellte Präparat Ihnen zeigt, waren noch Karzinomzellen in dem Stroma vorhanden und, wenn wir länger züchteten, starben die Stromazellen ab. Ich habe nun selbst in diesen letzten Monaten diese Versuche neu aufgenommen und mit Hilfe mir jetzt erst möglicher Ueberlegungen ein neues Medium zusammengesetzt. Nach den Erfahrungen von Mendelejeff 1923 (Brüssel), wachsen embryonale Gewebe besser, wenn sie in dem Plasma eines Tieres gezüchtet werden, das vorher mit embryonalem Gewebe intraperitoneal gespritzt wird. Ich nahm als Folgerung dieser und der Warburgschen Arbeit embryonale Leber (Leberplasma). In einem so zusammengesetzten Medium wachsen die Stromazellen gut, noch besser aber in einem Medium, das aus Leberplasma und Leberextrakt zusammengesetzt war. Hier konnten die Stromazellen isoliert gezüchtet werden. Sie wachsen ähnlich wie das derbe Bindegewebe in der Kultur. Langgestreckte Kerne finden sich in den einzelnen Zellen. Das Gewebe selbst sproßt baumartig aus. Wurden so gezüchtete Zellen eingepflanzt, so bildete sich kein Tumor (Ausführliche Arbeit folgt in der Zeitschrift für Krebsforschung).

Wir wissen von Fischer[1]) 1922, daß normale Epithelstämme und normale Bindegewebsstämme reingezüchtet und dann wieder zusammengebracht, eine Wirkung aufeinander ausüben [2]). Das hemmungslos wachsende Epithelgewebe bildet jetzt richtige Strukturen. Das Bindegewebe ist also das formbildende Moment des normalen Körpers. Ebenso hat Drew[3]) 1923 zu einer Reinzucht von Mäusekarzinomzellen normales Bindegewebe gesetzt und auch in dem Karzinom in vitro drüsige Strukturen erzeugt. Wieder eingepflanzt hat dieser englische Autor, wie bis

1) Fischer, A., Journ. of exp. Med. Vol. 36. 1922.

2) Fischer selbst (Journ. of exp. Med. Vol. 39. 1924) nimmt seine Ansicht teilweise zurück, Epithel keratinisiert und bildet Tubuli ohne Bindegewebe, aber da er in Plasma und Extrakt gezüchtet hat, so wird er die formgebenden Substanzen nicht ausgeschaltet haben. Das gleiche gilt für die Mitsudasche Angabe (Virch. Arch. Bd. 268. 1924.)

3) Drew, A. H., Lancet. Bd. 204. Nr. 16 u. 17. 1923.

jetzt veröffentlicht ist, seine so zusammengesetzten Kulturen nicht. Er mag es auch getan und ebenso wie ich keinen Erfolg gehabt haben. Die negativen Erfahrungen, Einpflanzung von gezüchteten Karzinomzellen allein, Einpflanzung von gezüchteten Stromazellen allein und eine positive Einspritzung von Karzinom- und Stromazellen zusammen gezüchtet, weisen unbedingt darauf hin, daß außer dem Zellmaterial noch etwas anderes vorhanden sein muß, wenn Tumoren erzeugt werden sollen.

Den negativen Experimenten steht die schon erwähnte positive Erfahrung gegenüber, die Züchtung der Sarkomzellen in dem Plasma des erkrankten Tieres und voller Impferfolg mit diesem Material. Die Beschaffenheit des späteren Tumorträgers und ganz besonders die Beschaffenheit seines Grundgewebes ist zu beachten. Das Bindegewebe muß erst verändert sein, wenn ein Tumor entstehen soll. Es wird verändert durch eine Impfung des organisierten Tumorplasmas (nicht zu lange gezüchtetes Karzinom oder Sarkom in Tumorplasma). Spontan-Tumorbildung ist eine Erkrankung des Grundgewebes, also des gesamten Körpers, in welchem das Gleichgewicht, welches im gesunden Körper zwischen Deck- und Grundgewebe herrscht, gestört ist. Ob das Grundgewebe nicht mehr funktionell richtig arbeitet, ob sich neue Produkte bilden, die die im Körper befindlichen wachstumshemmenden Stoffe unschädlich machen, sind bis jetzt ungelöste Fragen. Aus diesen Ueberlegungen läßt sich leicht verstehen, warum Spontantumoren wenig Stroma haben, da ja der Spontantumorträger nach meiner Annahme schon verändertes Grundgewebe hat. So erklärt die Ribbertsche Beobachtung sich zwanglos.

Aussprache.

Kraus (Wien): Die Mitteilung, daß die Karzinomzellen unter Einfluß von Stroma zu wuchern beginnen, was durch die Versuche von Frl. Dr. Rhoda-Erdmann in vitro sehr schön demonstriert ist, hat eine gewisse Analogie in den Versuchen am geteerten Organismus. Wie verschiedene Autoren, namentlich Lipschütz, annehmen, wird durch die Teerpinselung der Organismus derart beeinflußt, daß gewisse, zur Wucherung prädisponierte Zellen unter Einfluß des Reizes und eines bisher unbekannten Faktors malign werden. Es muß also auch hier noch ein zweites Moment hinzukommen, um die Wucherungsfähigkeit der normalen Zellen zu bedingen, so wie das Stroma in den vitro-Versuchen.

---

18. Vortrag. Z. Bien (Leiden):

Ueber das Alkohol-Fleckfieber-Diagnostikum.

Als die von Weil und Felix gefundenen X-Stämme beinahe mit Sicherheit die Fleckfieberdiagnose ermöglichten, war es ein Bedürfnis, eine dauerhafte Standardemulsion mit abgetöteten Kulturen auszuarbeiten. Dies erwies sich aber anfangs als schwer, da die Konservierungsmittel, worauf zuerst Weil hinwies, die X-Stämme so verändern, daß sie ihre Agglutinabilität beinahe völlig verlieren. Von Dietrich, Neuber, Schürer-Stern empfohlene Methoden blieben erfolglos. Dann erschienen fast zu gleicher Zeit die Publikationen von Csépai, Schiff und Sachs, die durch Erhitzen hergestelltes Dia-

gnostikum beschrieben[1]). Die Publikation des Verfassers erschien in M. m. W. Nr. 43. 1917[2], in welcher er über ein bereits sechs Monate haltbares mit Alkohol hergestelltes Diagnostikum berichtet. Weil und Felix selbst waren beschäftigt, eine Daueremulsion herzustellen, und auch mit Nachprüfungen durch andere empfohlener Diagnostika. Da zur Ausprobierung, besonders was die Dauerhaftigkeit anbelangt, nicht die notwendige Zeit verflossen war, warnten sie vorläufig vor Gebrauch aller Diagnostika (M. m. W. 1918. Nr. 1). Als Weil und Felix das Diagnostikum des Verfassers ausprobierten, hatten sie das Biensche Dagnostikum als das einzige für die Fleckfieber-Diagnose empfohlen, auch was die Dauerhaftigkeit anbelangt[3]). Ueber das Diagnostikum liegen ferner die Arbeiten von Otto[4]), Wolff[6]) und Löwy[7]) vor. Diese Arbeiten bestätigen weiter die Brauchbarkeit des Diagnostikums, sie ziehen es in mehreren Fällen sogar den lebenden Stämmen vor. Allein Kraus[5]) behauptet, daß das Diagnostikum zwar im Anfang oft feinere Ausschläge gibt, als der lebende Stamm, nach einer Zeit aber im Titer nachläßt, hingegen liegen die Untersuchungen von obenerwähnten Autoren vor, welche die Dauerhaftigkeit des Diagnostikums bestätigen. Das Diagnostikum ist mindestens zwei Jahre haltbar.

Die Herstellung des Diagnostikums.

Schrägagar-Röhrchen (Kolleflasche, Petrischale) oder Erlenmeyerkolben, am Boden mit zirka 2 cm hoher Nähr-Agarschicht, werden mit einer Oese des X 19-Stammes geimpft. Das geimpfte Kondenzwasser wird an der Agaroberfläche etwas verbreitet, um dadurch dichteres Wachstum zu erreichen. Durch zirka 24—48 Std. wird im Thermostat bei 37° bebrütet, und dann der gewachsene Rasen mit einer physiologischen Kochsalzlösung (0,9 Proz.), welche Lösung noch 0,5 Proz. Karbol enthält, abgeschwemmt. So bekommt man eine dichte Emulsion, welche in einen Meßzylinder abgegossen wird. Danach wird eine halbe Raummenge Alkohol abs. zu der Emulsion unter ständigem Umrühren beigefügt. Das Ganze rührt man nochmals mit einem Glasstabe gut um. Diese Emulsion in dem Meßzylinder, mit einem Wattepfropf zugestopft, kommt auf 24 Std. in den Thermostat. Nach ca. 12—24 Std. sieht man einen flockigen Bodensatz, von welchem die obenstehende, bereits fertige Daueremulsion abzugießen ist, die gleich gebraucht werden kann. Zur Orientierung der quantitativen Verhältnisse gibt Verfasser hier eine von ihm geübte Herstellungsweise als Beispiel an. Ein Erlenmeyerkolben, zirka 1 Liter, wird am Boden mit Nähragarschicht beschickt, das Kondenzwasser mit einer Oese vom X 19-Stamm beimpft und 17—48 Std. bei 37° im Thermostat bebrütet. Nachher wird mit ca. 50 ccm 0,5proz. Karbol in 0,9proz. Kochsalzlösung abgeschwemmt und gut geschüttelt (vor Abspülen Anfertigung eines Gram-Präparates vom Kondenswasser). Von der abgegossenen Emulsion geht

1) J. Wilson beschreibt ein Verfahren, mit getrockneten X_{19}-Kulturen zu arbeiten (Lancet 1922).
2) Ferner W. klin. Woch. Nr. 5. 1919.
3) W. klin. Woch. 31. Juli 1919. S. 801; Ztschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 29. 1920. H. 1/2. S. 48.
4) Ztschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. Bd. 97. 1922. H. 1/2.
5) Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 92.
6) Ergebn. d. Hygiene 1922.
7) W. klin. W. Nr. 5. 1919.

ca. 10 ccm verloren, so daß 40 ccm zurückbleiben. Zu diesen 40 ccm Emulsion gibt man 20 ccm (die Hälfte der Emulsionsmenge) Alkohol absolutus. Die Emulsion kommt auf 24 Std. in den Thermostat. Hiernach bildet sich etwas Bodensatz. Man gießt jetzt vom Bodensatz die nunmehr gleich gebrauchsfertige (zirka 50 ccm) Flüssigkeit in eine Flasche ab. Die Flasche kann mit Kork oder mit Gummi, sogar mit einer Tropfpipette geschlossen werden. Die nach dieser Weise hergestellte Emulsion ist so, daß davon 0,1 ccm zu 0,5 ccm Serumverdünnung zugesetzt (0,2 zu 1 ccm), eine gebräuchliche Trübung liefert. Dichtere Emulsion gibt dieselben guten Ausschläge; zu dünne Emulsion ist nicht empfehlenswert. — Wenn man vom Schrägagar die Emulsion macht, so kann man pro Schrägagar $1^1/_2$ ccm fertiges Diagnostikum rechnen[1]).

Ablesung der Agglutination.

Mit dem Diagnostikum erfolgt die Ablesung nach 1-2-6-12-24stünd. Stehen im Thermostat je nach der Titerhöhe des agglutinierenden Serums. Das Aussehen der Agglutination ist erst feinkörnig, dann findet ein schnelles Absetzen am Boden statt, weshalb beim Ablesen ein mäßig drehendes Aufschütteln des Röhrchens zu empfehlen ist. Das Resultat geht mit dem mit lebenden Kulturen gefundenen parallel bis zur Titergrenze, nach 12 Std. mit dem Diagnostikum noch 1—2 Verdünnungen schärfer. Die erstauftretende feinkörnige Agglutination erfolgt etwas später als bei lebenden Kulturen, doch tritt die Absetzung selbst rascher ein, wonach die obenstehende Flüssigkeit ganz klar erscheint. Weil konstatierte, daß die Agglutination mit Diagnostikum im Wasserbad von 50° mit den lebenden Kulturen gleichzeitig erscheint. Was die Resultate anbelangt, sagt Verfasser zusammenfassend, daß man mit dem Diagnostikum und mit den lebenden Stämmen parallele Werte erhält. Das Agglutinationsbild ist aber mit dem Diagnostikum oft viel ausgesprochener. Otto teilte in Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 97. H. 1/2, mit, daß bei klinisch sicheren Fleckfieberfällen die Agglutination mit dem durch ihn mit O-Form hergestellten Diagnostikum schärfere Resultate erreichte gegenüber dem Ausfall mit dem lebenden X19-Stamm.

Das Aufbewahren des Diagnostikums geschieht bei Zimmertemperatur, nicht im Eisschrank. Nach einiger Zeit bildet sich im Diagnostikum ein Bodensatz, weshalb das Diagnostikum vor dem Gebrauch aufzuschütteln ist.

Die Anstellung der Agglutination geschieht wie bei der Widalschen

---

1) Obzwar die Herstellungsart und die Utensilien absolut einfach sind, will Verfasser auf die in der Praxis vorkommenden Abweichungen hinweisen. Als Nährboden wird der gewöhnliche Nähragar verwendet. Zur Abspülungsflüssigkeit verwendet man die gewöhnliche 0,5proz. Karbol- bis 0,9proz. NaCl-Lösung. Am besten mißt man roh 100 ccm phys. NaCl-Lösung im Meßzylinder ab. Es bleibt dasselbe, ob die 100 ccm Aq. dest. 800 oder 900 mg NaCl enthalten. Man fügt hinzu 0,5 ccm Karbol. Das hinzuzufügende Karbol hat oft einen gelblichen Stich, aber das liefert keinen Fehler. Acidum carbolicum kann auch hergestellt werden aus Acidum carbolicum-Kristall, welches man mit ca. 10 Proz. Wasser erwärmt und von diesem gelösten Karbol (Acidum carbolicum liquefactum) nimmt man 0,5 Proz. zu 100 ccm physiol. Kochsalzlösung. Der zu verwendende Alkohol ist der sogenannte Alkohol absolutus, welcher in der Praxis 97proz. ist. Man kann diesen gebrauchen.

Reaktion. In jedes Röhrchen gibt man 0,1—0,2 ccm vom Diagnostikum [1]).

Die Agglutinabilität der X-Stämme.

Es ist für die Fleckfieberagglutination eine praktisch wichtige Frage, ob die X-Stämme, besonders der Stamm X 19, in ihrer Agglutinabilität sich überhaupt ändern und, wenn ja, welche Umstände dabei eine wesentliche Rolle spielen. Auf Grund mehrerer hundert Agglutinationen sagt Verfasser, daß eine solche Veränderung in der Agglutinabilität der X-Stämme, daß der X 19-Stamm seine Agglutinabilität so verändert, daß er einmal mit Fleckfieberserum ein positives und dann ein negatives Resultat gibt, nicht vorgekommen sei. Nachstehend teilt Verfasser vergleichende Untersuchungen von vier Stämmen aus verschiedenen Laboratorien mit. Die Stämme wurden auf Schrägagar weitergeimpft und dann zur Agglutination benutzt. Titer des Serums war 1:1000. Die Agglutination zeigte, daß alle vier Stämme gleich und gut agglutinierten.

Nährbodenwechsel.

Verfasser untersuchte, ob der in Praxis gewöhnlich gebrauchte Nährboden, wie Schrägagar, Plattenagar und Drigalski-Agar auf die Agglutinabilität Einfluß hat. Die drei Nährböden geben dasselbe Agglutinationsbild.

Alter der Kulturen.

Es wurden X 19 und OX 19 Kulturen auf Schrägagar jeden Tag 10 Tage lang überimpft. So erhielt man Schrägagarröhrchen, welche 10 Tage bis 1 Tag alt waren. Diese verschieden alten Schrägagarkulturen wurden dann gleichzeitig bei 37° mit einem Fleckfieberserum agglutiniert (Titer 1:200). Am besten agglutiniert der X 19-Stamm, welcher 6 Std. bis 1 Tag alt ist; schwächer, doch brauchbar agglutiniert der 3 Tage alte X 19-Stamm; ganz schwach und erst nach längerer Zeit (2 Tage) agglutiniert der 10 Tage alte X 19-Stamm. Bei der O-Form liegt es merkwürdigerweise anders. Hier bestehen keine großen Unterschiede, ob der Stamm 1 oder 10 Tage alt ist.

Temperatur.

X 19 und OX 19-Stämme wurden auf Schrägagar 24 Std. lang bei verschiedenen Thermostatgraden bebrütet und zwar bei 28°, 37° und 42°. Die Resultate zeigen keinen wesentlichen Unterschied in der

---

1) Weil hatte festgestellt, daß das Alkoholdiagnostikum reine O-Kulturen (O-Rezeptoren) enthält, obzwar das D. von X_{19}, also von der H-Form, hergestellt wurde, so daß der Alkohol als Trennungsmittel der Bakterienformen angegeben ist. Nach Erhalten dieses Resultates, daß der Alkohol von X_{19}-Form die H-Form trennt und die O-Form als Diagnostikum in der Lösung bleibt, erklärt es sich, woran eigentlich die Schwierigkeit bei Herstellung der Diagnostika lag. (die Trennnng der O-Form von der H-Form.) Weitergehend nach Entdeckung des O-Stammes von Weil, versuchte Verfasser mit OX_{19} auch Diagn. herzustellen, erst mit Alkohol, dann bloß mit einfacher Konservierung mit 0,5proz. Karbol in 0,9proz. NaCl. Verfasser erzielte auch mit dieser einfachsten Methode gute Resultate, so daß die Erhitzungsmethoden überflüssig sind. Mit reiner O-Form ist genügend die einfache Konservierungsmethode (Karbol, Formalin), um Daueremulsionen herzustellen. Diese Methode hat mehr theoretische Bedeutung neben der alkoholischen Methode, auch besonders wegen öfteren Zurückschlagens des O-Stammes auf die H-Form. Weil versuchte auch, von reiner O-Form durch Erhitzen eine Daueremulsion herzustellen.

Agglutinabilität, doch am besten agglutinieren die Stämme von 37°; etwas später die von 42° und noch schwächer die von 28°.

Die Dichte.

Die Dichte der Emulsion hat schon größere Bedeutung für die Agglutination. Die hier vorhandenen Verhältnisse erklären, warum einige Autoren behaupten konnten, daß die Agglutinabilität der Stämme sich oft änderte. Sie arbeiteten wohl mit verschieden dichten Emulsionen. Die Technik ist folgende: X 19 und OX 19-Stämme werden auf Schrägagar 24 Std. im Thermostat bebrütet. Die Stämme werden mit zwei Kubikzentimeter phys. Kochsalzlösung abgeschwemmt. Vorher werden die Agglutinationsröhrchen gefüllt mit je 1 ccm Serumverdünnung von einem Fleckfieberserum, welches 1:200 verdünnt ist. Das erste Röhrchen erhält einen Tropfen, das zweite Röhrchen zwei Tropfen, das dritte Röhrchen drei Tropfen, das vierte Röhrchen vier Tropfen Emulsion. Bei Ablesung der Agglutination ist ersichtlich, daß bei X 19 die Agglutination, je dünner die Emulsion, desto früher, dagegen bei dem OX 19-Stamm ganz umgekehrt, je dünner die Emulsion, desto langsamer die Agglutination eintritt, so daß man es willkürlich regeln kann, ob man bei OX 19 oder bei X 19 das frühere Eintreten der Agglutinabilität erhalten will.

Die letztgenannten Untersuchungen beweisen, daß die Abweichungen, welchen man während der Arbeit begegnet, die Weil-Felixsche Reaktion etwas beeinflussen können, nicht aber in dem Maße, daß eine fehlerhafte Fleckfieberdiagnose wegen der Veränderung der Agglutinabilität der X-Stämme begründet wäre.

Aussprache.

Kraus (Wien): Es ist möglich, daß das Alkoholdiagnostikum nicht genau nach den Angaben der Autoren bewertet wurde, da uns dieselben zu dieser Zeit, als wir die Versuche anstellten, nicht zur Verfügung standen. Mit einem Diagnostikum (erhitzte Proteus X 19) nach Sachs hatten wir recht gute Resultate zu verzeichnen.

Pribram (Wien): Im Wiener serotherap. Institut wird das alkohol. Fleckfieberdiagnostikum Biens hergestellt, und wir hatten während des Krieges vortreffliche Resultate damit.

R. Otto (Berlin): Das Biensche Diagnostikum hat sich uns gut bewährt, und zwar bevorzugen wir Diagnostika, die mit der O-Form hergestellt sind (vergl. Otto u. Chou, Ztschr. f. Hyg. Bd. 97). Im Laufe der Jahre hatten wir unter vielen hunderten von Krankenserenprüfungen einen Versager bei der Originalmethode von Weil und Felix, ein zweiter ähnlicher Fall ist mir aus unserer Krankenabteilung bekannt. In beiden Fällen blieb die Ursache der Störung unaufgeklärt. Die gleichzeitig mit dem Diagnostikum ausgeführte Reaktion verlief positiv. Seither halte ich immer ein Diagnostikum vorrätig.

Wir haben kürzlich unsere verschiedenen, 1 bis 3 Jahre alten O-Form-Aufschwemmungen (nach Bien) erneut geprüft und auch die älteren durchaus brauchbar gefunden, wie folgende Uebersicht zeigt:

Diagnostikum	Titer mit Serum 1	Serum 3	Serum 4
1921 (3 Jahre alt)	1:6400 +	1:6400 +	1:12800 + (1:25600 ±)
1922 (2 „ „)	1:1600 +/++ (1:3200 ±)	1:3200 +	1:6400 +
1923 (1 „ „)	1:3200 + (1:6400 ±)	1:3200 +	1:3200 +

19. Vortrag. Hayo Bruns (Gelsenkirchen):

Typhusepidemien und Wasserleitungen.

Die durch die Verseuchung von Wasserleitungen bedingten Typhusepidemien haben im allgemeinen ganz bestimmte Kennzeichen. Um eine Trinkwasserleitungsepidemie anzunehmen, verlangt man, daß ein einigermaßen großer Prozentsatz der Wassertrinker ziemlich gleichzeitig an Typhus erkrankt, ohne daß bei der Ermittlung und Untersuchung der einzelnen Fälle sich andere Infektionswahrscheinlichkeiten bieten. Man verlangt, daß das Feld der Typhusverbreitung sich mit dem Felde der Trinkwasserverbreitung im großen und ganzen deckt, ferner, daß die Kurve der Typhusfälle einen raschen Anstieg, einen kurzen Höhepunkt und einen etwas langsameren, aber immer noch verhältnismäßig steilen Abfall zeigt. Erst etwa 3 Wochen nach dem Höhepunkt der Krankheitsfälle mehren sich die Erkrankungen, bei denen man mit Wahrscheinlichkeit eine Kontaktinfektion annehmen muß, und die Kurve zeigt dann meist eine zweite kleinere Zacke, die eben durch das Auftreten der Kontaktfälle in den Familien oder der Umgebung der Ersterkrankten bedingt ist. Wenn dann noch Schäden in der Wassergewinnung oder Wasserzuführung und die mehr oder weniger große Möglichkeit der Verseuchung der Wasserzuflüsse mit Typhusbazillen in der kritischen Zeit bekannt werden, so wird man mit größerer oder geringerer Wahrscheinlichkeit an eine Wasserleitungsepidemie denken müssen. Es gibt noch eine Reihe von anderen Momenten, die unterstützend für eine solche Diagnose wirken, so das vorzugsweise Befallensein bestimmter Personenkreise, die erfahrungsgemäß viel Wasser trinken, das Uebergreifen der Typhusfälle auf Personen, die auswärts wohnen und nur bei vorübergehender Anwesenheit aus der Wasserleitung getrunken haben; doch sind diese Verhältnisse so verschieden, daß sie jeder Epidemie einen individuellen Charakter aufdrücken. Aber alle diese Kennzeichen können gelegentlich fehlen, gelegentlich auch nur angedeutet sein, so daß ihre Deutung manchmal nicht ganz leicht ist. In vielen Fällen ist die Diagnose Wasserleitungsepidemie leicht, unter Umständen durchaus klar und eindeutig. In anderen Fällen kommt man über eine mehr oder weniger hohe Wahrscheinlichkeit nicht hinaus, und es kann die Entscheidung, ob man die Wahrscheinlichkeit für groß genug hält, um den in Frage kommenden Wasserwerken eingreifende Aenderungen ihres Betriebes zu raten, oft hohes Maß von Kritik erfordern und einen nicht ganz leichten Entschluß bedeuten Die Kenntnis der atypisch verlaufenen Wasserleitungsepidemien scheint mir, trotzdem Gärtner in seinem Handbuch der Hygiene des Wassers auf diesen Umstand aufmerksam gemacht hat, noch nicht genügend bekannt. Wir haben im Ruhrkohlengebiet eine Anzahl derartiger atypischer Typhusepidemien, die wir aber trotzdem auf Trinkwasser zurückführen müssen, erlebt. Unter diesen waren ganz große Epidemien, die Tausende von Fällen betrafen, und kleine Epidemien, die nur etwa 30—40 Fälle umfaßten, trotzdem sie große zentrale Wasserleitungen betrafen. Im Durchschnitt wird die Zahl der Infektionen, die von einer Wasserleitungsepidemie ausgehen, etwa 0,5—2 Proz. der Bevölkerung ausmachen. Wir haben Fälle erlebt, bei denen, allerdings nur bei dörflichen Wasserleitungen, diese Zahl weit überschritten wurde. Die Höchstzahl einer Epidemie, die durch Trinkwasser hervorgerufen wurde, betrug mehr als 20 Proz. in einem Dorfe, bei dem von etwa 700 Ein-

wohnern mehr als 140 nahezu gleichzeitig an Typhus erkrankten. Interessanter aber sind die Fälle, bei denen nur ein ganz verschwindend geringer Bruchteil der Einwohner des Versorgungsgebiets an Typhus erkrankt; so haben wir eine Epidemie gesehen, bei der nur etwa 0,2 bis 0,3 pro Mille der Bevölkerung an Typhus erkrankten und die wir trotzdem auf die zentrale Wasserleitung zurückführen müssen, eine andere, bei der etwa 0,3—0,5 pro Mille erkrankten. Vor allen Dingen haben wir die eine oder andere Epidemie beobachtet, bei der der ganze Charakter der Epidemie nicht ein „blitzartiger", sondern ein nahezu chronischer, sich über $^1/_2$ Jahr und länger erstreckender war; es hat sich da nicht um eine einmalige, sondern um eine häufig wiederholte, ganz leichte Verseuchung gehandelt, deren Ursache erst nach längeren Monaten aufgedeckt und beseitigt werden konnte. Endlich haben wir bei den komplizierten Wasserversorgungsverhältnissen des genannten Gebiets es häufiger beobachtet, daß nur einzelne Teile der Wassergewinnungsanlagen verseucht waren, und daß deshalb sich das Wasserfeld und das Typhusfeld nicht miteinander deckte.

Wenn ich jetzt dazu übergehe, einzelne Typhusepidemien, die in einem Gebiet durch Trinkwasserleitungen entstanden sind, zu schildern, so möchte ich dabei ausdrücklich betonen, daß es sich nur um Ausnahmefälle handelt. Im allgemeinen ist auch in dem mit Unrecht wegen seiner hygienischen Verhältnisse oft verschrienen Ruhrkohlengebiet das Trinkwasser einwandfrei. Andererseits begegnet die Versorgung dieser Gegend mit Wasser so großen Schwierigkeiten, wie sicher nirgends wo anders in Deutschland. Leider muß ich es mir in diesem Zusammenhange versagen, allzu weit darauf einzugehen. Ich möchte nur darauf hinweisen, daß die im Ruhrtalsperrenverein vereinigten Wasserwerke an der Ruhr, die den größten Teil des Ruhrgebiets mit Leitungswasser versorgen, jährlich mehr als 500 Millionen Kubikmeter Wasser, d. h. täglich etwa $1^1/_2$ Millionen oder sekundlich 20 cbm Wasser, pumpen.

Von besonderem Interesse scheint mir eine Typhusepidemie zu sein, die im Jahre 1919 in der Stadt X aufgetreten ist. Dabei handelt es sich um folgendes:

Seit Anfang März 1919 war uns aufgefallen, daß bei den regelmäßigen täglichen, bakteriologischen Untersuchungen auf der Pumpstation des X..er Wasserwerks und im Versorgungsgebiet der Stadt X. sich erhebliche Differenzen zeigten, dergestalt, daß die Keimzahlen, die täglich in einer ganzen Reihe von Brunnen- und Zapfhahnproben auf der Pumpstation selbst genommen wurden, normale Werte, d. h. etwa 10—20, höchstens bis 50 ergaben, während sie in der Stadt X. recht hoch waren, und zwar etwa zwischen 200 und 500 schwankten. Die Zunahme der Keimzahlen begann ziemlich plötzlich am 7. März 1919. Auf Anfragen nach der Ursache wurde uns zunächst die in unserer Gegend übliche Antwort gegeben, daß einige Tage vorher in der Nähe der Probeentnahmestelle ein Rohrbruch gewesen sei, und daß mit Wahrscheinlichkeit auf diesen Umstand die hohe Keimzahl zurückgeführt werden müsse. Dazu muß bemerkt werden, daß infolge der Bodensenkungen durch den Kohlenbergbau Rohrbrüche in dieser Gegend überaus häufig sind, so daß beispielsweise das Gelsenkirchener Wasserwerk durchschnittlich mit einem größeren Rohrbruch jeden Tag rechnet. Jedoch auch nach Beendigung der Rohrbrucharbeiten blieben die Keimzahlen in der Stadt X. und zwar nur hier,

hoch. Es wurde nach abermaliger Anfrage mitgeteilt, daß wiederum in der Nähe an einem Rohr gearbeitet worden sei. Dann kam zwischendurch während der Monate April und Mai 1919 eine vollständige Verkehrssperre infolge der kommunistischen Unruhen, später eine Gassperre infolge Generalstreiks, so daß bakteriologische Untersuchungen nicht vorgenommen werden konnten. Aber trotz dieser Unterbrechung blieb mit einigen kleinen Remissionen die Keimzahl in der Stadt X. dauernd hoch, und zwar bis zum 1. Okt. 1919. Es wurde nun bei den weiteren Ermittelungen festgestellt, daß die hohen Keimzahlen nicht in allen Teilen der Stadt X. auftraten, sondern bald in dem einen, bald in dem anderen Gebiet.

Die etwa 480000 Einwohner zählende Stadt X. wird von zwei Hochbehältern, die aus dem gleichen Werk gespeist werden, mit Wasser versorgt. Es ist einmal der St. Wasserturm, der bei den großen kommunistischen Kämpfen im Jahre 1920 eine besondere Rolle gespielt hat bzw. ein neben diesem gelegener Erdbehälter, und ferner der Hochbehälter in B., einem Vorort von X. Es stellte sich nun heraus, daß je nachdem, wie die Druckrohrleitungen, die von der Pumpstation zu den beiden Hochbehältern hingehen, geschaltet waren, die hohen Keimzahlen entweder nur in dem vom St. Wasserturm versorgten Gebiet (Altstadt und Fabrikviertel) auftraten, oder dem vom Hochbehälter Br. versorgten Gebiet, gelegentlich auch in beiden Teilen. Die chemische Untersuchung des Wassers und auch die Durchsichtigkeitsprüfung des Wassers ergab außer einer gelegentlich leichten Erhöhung der organischen Substanzbestimmungen keine auffallenden oder voneinander abweichenden Werte, insbesondere war in den Zapfhahnproben weder Ammoniak noch salpetrige Säure nachzuweisen, noch auch war je der Chlorgehalt über das, was wir normalerweise beobachteten, erhöht. Zunächst schien es, als ob der neben dem St. Hochbehälter gelegene Erdbehälter die Schuld an der Keimzahlerhöhung trug. Er wurde infolgedessen außer Betrieb genommen und gründlich gereinigt. Aber auch nach dieser Reinigung blieb das gleiche Bild, das wir während des halben Jahres beobachtet hatten. Es wurden nun ganz systematisch die von der Pumpstation zu den Hochbehältern hinführenden Rohrleitungen untersucht, und es stellte sich heraus, daß der Grund zu der Verunreinigung des Wassers unmittelbar auf der Pumpstation liegen mußte, da schon der zunächst liegende Hydrant hohe Keimzahlen ergab. Erst auf Grund dieser Ermittelung kam man zur Aufklärung der Keimzahlerhöhung. Sie ergab folgendes: Neben der Trinkwasserleitung besitzt das Wasserwerk der Stadt X. eine Kondenswasserleitung, mittels derer für gewöhnlich rohes Ruhrwasser entnommen und in den Kondensator hineingebracht wird, um dort den überschüssigen Dampf der Pumpmaschine niederzuschlagen. Dieses Kondenswasser geht selbstverständlich wieder zur Ruhr zurück. Um zu Zeiten des Niedrigwassers und dann, wenn das Ruhrwasser besonders stark verschmutzt ist, sich noch auf andere Weise helfen zu können, besitzt diese Kondenswasserleitung noch eine Verbindung zur Saugleitung der Druckmaschinen, und es kann in Ausnahmezeiten durch diese zu Kondensationszwecken reines Wasser genommen werden. Diese Verbindungsleitung ist durch einen Schieber, gewöhnlich noch durch einen Blindflansch, verschlossen gewesen. Während des Krieges ist die von der Ruhr zur Maschine führende Kondensationsleitung defekt geworden; sie hat nicht erneuert werden

können, und es mußte, zumal große Betriebe von der größten Kriegswichtigkeit, u. a. ein erheblicher Teil der Werkstätten der Firma K., an das Wasserwerk angeschlossen waren, längere Zeit hindurch zu Kondensationszwecken aus der Saugleitung reines Wasser benutzt werden. In den ersten Tagen des März 1919 ist aber die Kondensleitung von den mittlerweile aus dem Heeresdienst zurückgekommenen Angestellten des Wasserwerks wieder in Ordnung gebracht worden, und zwar so, daß der Schieber in der Zuführungsleitung von der Ruhr wieder geöffnet und der Schieber in der Verbindungsleitung zur Reinwasserleitung geschlossen wurde. Es war aber vergessen worden, den Blindflansch in diese Verbindungsleitung auch wieder einzubauen. Nachträglich aber hat sich herausgestellt, daß der Schieber dieser Verbindungsleitung undicht war. Da der Druck in der Saugeleitung erheblich stärker ist als der Druck in der ungereinigtes Ruhrwasser führenden Kondenswasserleitung, so wurde beim Fehlen des Blindflansches bei jedem Ansaugen der Pumpmaschine durch den undichten Schieber eine kleine Menge unfiltrierten Ruhrwassers in die Saugerohrleitung aspiriert und kam so zum Konsum in die Stadt X. Das Wasser führte im allgemeinen eine 400 mm-Druckleitung in den St...er Wasserturm hinein. Bei gelegentlichen Umstellungen der Schieber ist dieses mit rohem Ruhrwasser zum Teil vermengte Reinwasser auch in den zweiten Hochbehälter und in die von diesem versorgte Zone hineingekommen. Es hat dann während dieser Zeit der St...er Wasserturm nur gereinigtes Wasser bekommen. Sobald dieses festgestellt war, ist sofort der Blindflansch an der Verbindungsleitung wieder eingebaut worden. Das geschah am 21. Okt. 1919, und seit der Zeit, genau seit diesem Tage, sind die Keimzahlen wiederum vollständig normal. Durch das zeitliche Zusammenfallen dieser beiden Ereignisse (hohe Keimzahlen seit dem 7. März 1919, Wiederinbetriebnahme der Kondensationsleitung Anfang März, Ausschaltung des von der Ruhr kommenden Zuflusses am 21. Okt., niedrige Keimzahlen seit dem 21. Okt. 1919) ist wohl der Zusammenhang zwischen der Verunreinigung des Leitungswassers durch rohes Ruhrwasser und den hohen Keimzahlen unwiderleglich bewiesen. Wir schätzen nach den Keimzahlermittelungen die Mengen Ruhrwasser, die dem Leitungswasser beigemischt waren, zu etwa 1—3 Proz. Selbstverständlich schwankten diese Zahlen je nach der Entnahme aus dem Reinwasserbrunnen und dem Verbrauch. Nun ist aber von großem Interesse, daß während der ganzen Zeit in der Stadt X. eine Typhushäufung zur Beobachtung gekommen ist. Die Zahl der Typhusfälle die in der Stadt X. in den einzelnen Wochen des Jahres 1919 beobachtet sind, sind folgende gewesen:

		1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche
Januar	1919	3	2	0	6	5
Februar	„	0	4	4	3	.
März	„	0	6	0	2	.
April	„	12	11	0	13	9
Mai	„	10	38	15	7	.
Juni	„	10	6	3	19	.
Juli	„	11	12	5	5	2
August	„	5	4	12	3	.
September	„	2	12	0	12	.
Oktober	„	5	7	0	13	5
November	„	3	2	3	0	.
Dezember	„	8	5	0	3	0

Wir haben danach unverkennbar eine Steigerung der Typhusfrequenz vom April bis Oktober. Während im Monat Januar, Februar und März durchschnittlich 12 Typhusfälle auf die Stadt X[1]) entfallen, sind im April (5 Wochen) 45, im Mai 70, im Juni 38, im Juli 35, im August 24, im September 26, im Oktober 30 Typhusfälle im ganzen gezählt worden. Im November/Dezember sind die Zahlen wieder auf 8 und 16 heruntergegangen. In den 7 fraglichen Monaten sind also im ganzen 268 Typhuserkrankungen vorgekommen, in den übrigen 5 Monaten 59. Nun ist sehr interessant, daß der damalige Kreisarzt von X., der im Jahre 1921 leider zu früh verstorbene Geheime Medizinalrat Dr.. Racine, mir mitgeteilt hat, daß er bei den Typhusfällen bis zum März 1919 und etwa vom November 1919 ab in den bei weitem meisten Fällen immer Kontaktmöglichkeiten gefunden habe, während das zur Zeit der Epidemie von April bis Oktober 1919 nur in sehr geringem Umfange der Fall war. Sein Verdacht richtete sich, da die oben erwähnte Ursache bezüglich des Wassers erst im Oktober 1919 ermittelt wurde, und da auf Grund der Keimzahlen der Pumpstation angenommen wurde, daß die Wasserverhältnisse in Ordnung seien, in erster Linie auf andere Ursachen. Wie er mir mitteilte, kamen Milch, Fleisch, Gemüse, Obst und sonstige gemeinschaftliche Nahrungsmittel nicht in Frage, und es wurde wenigstens für den Sommer 1919 angenommen, daß der Genuß von Speiseeis, das von Straßenhändlern in X. verkauft sei, möglicherweise an den Typhusfällen schuld sei. Nach Aufklärung der Sachlage hat er aber ohne weiteres anerkannt, daß die Epidemie als eine Trinkwasserverseuchung anzusehen sei, und zwar dergestalt, daß von den 268 Fällen rund 160—180 Fälle doch wohl auf das Wasser hätten zurückgeführt werden müssen. Die bei weitem meisten Fälle, namentlich auch die im Beginn der Epidemie im April und Mai 1919, sind in dem vom St...er Wasserturm versorgten Teil der Stadt X., und zwar weit verstreut in der ganzen Stadt, vorgekommen. Gelegentlich hat sich auch nachweisen lassen, daß, wenn das hohe Keimzahlen führende Wasser zu dem Hochbehälter Br. umgeleitet war, dann in den von diesem versorgten Stadtgebieten die Typhusfälle auftraten. Im April und Mai sind in keiner Familie mehrere Fälle aufgetreten, sondern alle sind zerstreut aufgetreten. Im Juli, August und September sind dagegen eine Anzahl von Kontaktfällen, aber nur wenige beobachtet worden. Auch von den Fällen, die im September und Oktober sich ereignet haben, muß angenommen werden, daß sie auf den Wassergenuß zurückzuführen sind. Zu erklären ist die wiederholte Häufung der Typhusfälle nur dadurch, daß man eine wiederholte, verhältnismäßig leichte Infektion der Leitung annimmt. Von Interesse ist nun weiter, daß in den unmittelbar oberhalb des X..er Wasserwerks gelegenen Gemeinden St. und K., die durch einen nur wenige hundert Meter oberhalb des Wasserwerks gelegenen Schmutzbach in die Ruhr entwässern, in der Zeit vom Januar bis September 1919 im ganzen 19 Typhusfälle aufgetreten sind. Außerdem kamen in den an dem O..bach, ca. 12 km oberhalb des Wasserwerks, entwässernden Gemeinden L. 29, H. 4, W. 9 Typhusfälle vor, ferner in den noch näher gelegenen Gemeinden L. 5, St. und Bl. je 3, D., B. und H. je 1 Fall. Jedenfalls ist also damit zu rechnen gewesen, daß in der ersten Hälfte des Jahres 1919 die Ruhr dauernd

1) Bevölkerungszahl ca. 480000.

mit Typhusbazillen infiziert gewesen ist, und so ist es wohl zu erklären, daß Typhusbazillen nicht ein einziges Mal, sondern aller Voraussicht nach in häufigen, wiederholten kleinen Schüben auch in die X..er Wasserleitung hineingekommen sind. Da aber der Anteil des rohen Ruhrwassers im Leitungswasser, wie oben erwähnt, nur 1 bis etwa 3 Proz. ausgemacht hat, ist es nicht zu einer großen Epidemie, sondern nur zu einer kleinen Häufung der Fälle, die in dem ganzen halben Jahre nur etwa 0,3—0,4 pro Mille der Einwohnerschaft der Stadt X. betragen hat, gekommen. Wir haben also hier ein Beispiel vor uns, das mit allergrößter Wahrscheinlichkeit nur eine ganz kleine, noch dazu chronisch verlaufende Typhusepidemie durch Leitungswasser darstellt. Selbstverständlich sind sofort, nachdem die Ursache der Typhusfälle klargelegt worden ist, alle erforderlichen Maßregeln getroffen worden, um eine ähnliche Möglichkeit für später absolut zu vermeiden.

Ein weiteres Beispiel einer durch Wasser bedingten, verhältnismäßig kleinen Typhusepidemie ereignete sich im Jahre 1923 in der Stadt Y.[1]). Hier waren es im ganzen nur etwa 30 Fälle, die durch eine verhältnismäßig geringfügige Verseuchung der Zentralwasserleitung nach unserer Annahme hervorgerufen waren. Auch hier kam der Verdacht der Verseuchung der Wasserleitung erst längere Zeit, nachdem die Epidemie abgeklungen war. In der Zeit vom 12. bis 14. Okt. 1923 war ein plötzliches und unerwartetes Hochwasser in der Ruhr aufgetreten, so daß die Ruhr nach dem am Y..er Wasserwerk befindlichen Pegel innerhalb von 24 Std. um etwas mehr als $2^1/_2$ m gestiegen war. Es hatte dabei eine starke Ausuferung stattgefunden, so daß weite Strecken des Wassergewinnungsgeländes unter Wasser gekommen waren. Auch die Sammelbrunnen waren unter Wasser geraten. Für eine Undichtigkeit derselben ließ sich jedoch kein Anhaltspunkt gewinnen. Nun hatte die Stadt Y. im Jahre 1923 aber umfangreiche Neuanlagen in Arbeit gegeben, die, da das Hochwasser unerwartet früh gekommen war, noch nicht beendigt waren. An mehreren Stellen, namentlich in einigen der neu angelegten Filterbecken, lag der blanke Kies zu Tage. Ich vermute, daß an dieser Stelle, die mit dem Hochwasser auf das Gelände gekommenen Typhusbazillen in den Grundwasserstrom eingedrungen sind, mit diesem zu dem Sammelbrunnen des Werks gekommen sind und so zu einer leichten Infektion der Leitung Anlaß gegeben haben. Die am 12. Okt. 1923 ermittelten Keimzahlen betrugen 1100—1200. Die Zahl der Typhusfälle, die in Y. auftraten, war in den einzelnen Wochen folgende:

	1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche
Oktober 1923	2	1	1	2	—
November „	6	8	7	11	—
Dezember „	8	3	—	2	—

Die Steigerung der Typhuszahlen begann in der Woche vom 4. bis 10. Nov. und hörte in der Woche vom 2. bis 8. Dez. auf. Es handelte sich also im ganzen um 40 Typhusfälle. In der Zeit vorher und nach dieser Typhusepidemie war dasselbe Bild, das wir auch bei der vorher beschriebenen Epidemie kennen gelernt hatten, nämlich, daß eine ganze Anzahl von Typhusfällen durch Kontaktmöglichkeiten

1) Einwohnerzahl ca. 160000.

zu erklären war; während der Epidemie war das nur für einige Erkrankungen der Fall. Da die Fälle in der Stadt weit zerstreut waren, mußte eine gemeinschaftliche Ursache, und zwar in erster Linie eine Nahrungsmittelinfektion, angenommen werden. Der anfängliche Verdacht, daß das Wasser die Ursache wäre, wurde wieder fallen gelassen, da anscheinend die übrigen Teile des Versorgungsgebietes frei von Typhus waren. Es wurde nun auf Milch gefahndet, doch weder die Versorgung mit Frischmilch, noch mit Trockenmilch gaben eine befriedigende Aufklärung. Es stellte sich bei weiteren Nachforschungen heraus, daß auch in dem restlichen Versorgungsgebiet, das im übrigen nur etwa 30000 Einwohner gegenüber 160000 Einwohnern der Stadt Y. umfaßt, auch noch 7 Typhusfälle aufgetreten waren, so daß in Anbetracht der wesentlich geringeren Einwohnerzahl des restlichen Gebiets auch hier annähernd die gleiche relative Typhusfrequenz wie in der Stadt Y. zu beobachten gewesen ist. Es hat sich bei dieser Epidemie, die sich auf etwas mehr als 1 Monat erstreckte, im ganzen um vielleicht 30—35 mit großer Wahrscheinlichkeit durch Trinkwasser bedingte Typhusfälle gehandelt. Bei einer Gesamtkonsumentenzahl von rund 190000 Menschen sind innerhalb der $1^1/_2$ Monate etwa 0,15—0,2 pro Mille der Bevölkerung infolge der Infektion der Leitung an Typhus erkrankt[1]). Auch hier steht die Geringfügigkeit der relativen Zahl der Infektionen in Einklang mit dem von uns angenommenen Infektionsmechanismus, der noch dadurch an Wahrscheinlichkeit gewinnt, daß in den Gemeinden, die in den O..bach entwässern (L., W., H.), in der Zeit vom 30. August bis 3. Nov. 1923 im ganzen 9 Typhusfälle beobachtet worden sind. Der O..bach selbst mündet etwa 500 m oberhalb des oberen Endes des Wasserwerks der Stadt Y. auf dem rechten Ufer, demselben Ufer, auf dem auch die oben erwähnten Neuanlagen liegen, in die Ruhr hinein.

Noch in einigen weiteren Fällen glaube ich wenigstens eine erhebliche Wahrscheinlichkeit dafür zu haben, daß Wasserleitungen in geringem Umfange gelegentlich durch Typhusbazillen verseucht waren und zu Typhusfällen Anlaß gegeben haben. So trat im Juli 1923 in dem etwas weiter oberhalb an der Ruhr gelegenen S. eine Epidemie auf, die wir, wenigstens nach dem uns vorliegenden Material, auch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit auf Wasser zurückführen müssen. Die Zahlen der Typhusfälle in der fraglichen Zeit in S. waren folgende:

		1. Woche	2. Woche	3. Woche	4. Woche	5. Woche
Juni	1923	—	—	—	—	—
Juli	„	28	18	4	12	.
August	„	1	—	—	—	.
September	„	—	1	2	2	.
Oktober	„	—	—	—	6	2
November	„	1	—	1	1	.
Dezember	„	—	—	—	—	.

S. ist eine Stadt von 15000 Einwohnern. In dieser Stadt kamen in der fraglichen Zeit, während sonst nur vereinzelte Typhusfälle auf-

1) Die durchschnittliche Typhusfrequenz in der Stadt Y. beträgt etwa 0,6 $^0/_{00}$ der Bevölkerung pro Jahr; wir hätten danach in dieser Zeit eine Zunahme der Zahl um das Doppelte gehabt.

traten, nicht weniger als 62 Typhusfälle innerhalb 4 Wochen plötzlich zur Beobachtung. In den ersten Wochen waren Kontaktfälle nicht nachweisbar, in der 4. Woche dagegen waren unter den 12 gemeldeten Fällen eine ganze Reihe von Kontakterkrankungen, wenigstens 8, bei denen in der Familie vorher Erkrankungen vorgekommen waren. Man muß also unbedingt eine gemeinschaftliche Ursache (gemeinschaftliches Nahrungsmittel) annehmen. Nach Mitteilung des zuständigen Kreisarztes war eine Infektion durch Milch, Fleisch oder irgendein anderes Nahrungsmittel nach Lage der Verhältnisse ausgeschlossen. Der Verdacht, daß es sich um eine Trinkwasserepidemie handele, wurde auch damit begründet, daß in der ganzen Zeit das von dem in Frage kommenden Wasserwerk gelieferte Trinkwasser ungünstige bakteriologische Resultate, insbesondere einen Colititer, der wochenlang unter 1 ccm betragen hat, aufwies. Allerdings spricht gegen die Auffassung, daß es sich um eine Verseuchung des Trinkwassers handelte, der Umstand, daß von demselben Wasserwerk noch andere große Teile des Gebiets, eine Reihe von Gemeinden des Landkreises H., versorgt werden, in denen nur vereinzelte Typhusfälle aufgetreten sind. Das Wasserwerk gab damals an, daß es in seinem Betriebe keine Einrichtung kenne, die die isolierte Verseuchung der Stadt S. erklären könnte. Leider sind mir die Verhältnisse des dortigen Wasserwerks nicht genau genug bekannt, um mich diesem Urteil anschließen zu können. Aus den Unterlagen, die ich hinsichtlich dieser Epidemie habe, muß ich den Schluß ziehen, daß trotz dieser Auffassung die Wahrscheinlichkeit vorliegt, daß die Erkrankungen durch eine Verseuchung eines isolierten Teiles des in Frage kommenden Wasserwerks entstanden sind. Dafür spricht schließlich auch die im Verhältnis zur Einwohnerzahl nicht ganz geringe Erkrankungsziffer, ca. 4 pro Mille der Bevölkerung.

Daß wir gerade hinsichtlich der Forderung, daß bei Wasserleitungsepidemien das Typhusfeld immer mit dem Wasserfeld sich decken muß, vorsichtig sein müssen, haben uns mehrere größere Typhusepidemien gezeigt, die wir früher beobachtet haben. Im Jahre 1911 herrschten infolge der langen Trockenheit an der Ruhr ganz besonders schwierige Wasserverhältnisse. Die große Hitze des Jahres 1911 wird wohl noch in lebhafter Erinnerung sein, es genügt hier vielleicht die Angabe, daß im Juli und August wochenlang hintereinander die Maximal-Tagestemperaturen über 30° betrugen, und daß auch die Minimal-Tagestemperaturen in dieser Zeit kaum unter 20° heruntergingen. Uns

		Pumpstation Langschede des Wasserwerks für das nördl. westf. Kohlenrevier	Pumpstation Horst des Wasserwerks für das nördliche westf. Kohlenrevier	Pumpstation des Wasserwerks der Stadt Mülheim
Januar	1911	.	.	23,1
Februar	„	.	.	53,0
März	„	.	.	49,1
April	„	.	.	34,5
Mai	„	36,8	24.1	29,6
Juni	„	52,9	59,2	64,0
Juli	„	15,7	13,9	15,8
August	„	15,7	20,8	7.2
September	„	32,5	51,3	48,3
Oktober	„	65,3	50,5	53,3
November	„	34,4	52,3	65,8
Dezember	„	66,6	84.4	67,3

stehen für eine Reihe von Pumpstationen regelmäßig tägliche Messungen der Regenmenge zur Verfügung, aus denen ich für die obere, mittlere und untere Ruhr folgende Zahlen herausgreife. Die Orte, an denen die Regenmessungen vorgenommen sind, sind angegeben. Danach betrug die gesamte, während des Monats niedergegangene Regenmenge folgende Werte (ausgedrückt in mm):

(Vgl. die Tabelle auf S. 208.)

Wenn man demgegenüber berücksichtigt, daß nach Mitteilung des Wasserwerks der Stadt M., die in den Jahren 1908 bis 1910 gefallenen Regenmengen 726, 730 und 746 mm oder monatlich etwa durchschnittlich etwas mehr als 60 mm betrugen, so geht daraus hervor, daß bereits die Monate März, April, Mai ganz erheblich unter dem Durchschnitt zurückblieben. Nachdem dann der Monat Juni Regenfälle gebracht hatte, die etwa dem Durchschnitt entsprachen, ging die Regenmenge in den beiden folgenden Monaten und in der ersten Hälfte des September weiter noch ganz wesentlich zurück. Erst in den letzten Tagen des September fielen die ersten etwas ergiebigeren Regenmengen wieder. Die Folge davon war, daß von April und Mai ab die Wasserführung der Ruhr ganz wesentlich zurückging und im September Minimalzahlen erreichte, die bisher nicht beobachtet worden sind. Die im folgenden wiedergegebenen Zahlen, die ebenfalls großes Interesse beanspruchen können, verdanke ich einer Mitteilung des Ruhrtalssperrenvereins. Danach hatte die Wasserführung der Ruhr einmal oberhalb der Stadt Witten, andererseits an der Mülheimer Schleuse, folgende Werte betragen (angegeben in cbm pro Sekunde):

		A. Bei Witten (unter Berücksichtigung des der Ruhr durch die Pumpwerke dauernd entzogenen Wassers)			B. An der Mülheimer Schleuse		
		höchste	niedrigste	mittlere	höchste	niedrigste	mittlere
		Wasserführung der Ruhr			Wasserführung der Ruhr		
Januar	1911	134,7	51,2	78,5	145,5	52,8	83,0
Februar	„	353,6	45,2	130,6	388,7	46,0	140,9
März	„	353,6	56,7	137,7	388,7	58,8	148,8
April	„	56,7	32,9	44,3	58,8	31,4	45,1
Mai	„	69,4	28,7	43,8	72,9	27,7	44,5
Juni	„	37,3	15,8	22,4	37,3	13,4	20,7
Juli	„	22,4	6,8	12,8	20,7	3,4	10,1
August	„	10,8	3,8	6,4	7,8	0,1	2,96
September	„	4,4	3,7	3,9	0,7	0,0	0.21
Oktober	„	23,5	4,1	10,4	21,9	0,3	7,36
November	„	217,5	12,7	51,9	237,5	9,9	53,46
Dezember	„	281,8	28,7	90,7	309,0	27,7	96,6

Man sieht, wie bereits seit dem April die Wasserführung der Ruhr, die an dieser Stelle nach früherer Mitteilung des Ruhrtalsperrenvereins durchschnittlich etwa 70—80 cbm sekundlich betragen dürfte, wesentlich herunterging, wie im August in Mülheim die niedrigste Wasserführung der Ruhr nur 0,1 cbm pro Sekunde betrug, wie im September selbst die höchste Wasserführung nur 0,7 cbm brachte, zur Zeit des niedrigsten Wasserstandes aber gar kein Wasser mehr die Mülheimer Schleuse passierte. Fast noch drastischer sind einige Messungen, die von Anfang August bis Ende September gegenüber dem Pumpwerk der Rheinischen Stahlwerke etwa 3 km unterhalb von

Mülheim ausgeführt wurden und die ich ebenfalls dem Ruhrtalsperrenverein verdanke. Die Messungen ergaben:

Am	10.	August	eine	sekundl.	Abflußmenge	von	1,89 cbm
„	15.	„	„	„	„	„	1,55 „
„	22.	„	„	„	„	„	0,59 „
„	29.	„	„	„	„	„	0,53 „
„	5.	September	„	„	„	„	0,46 „
„	12.	„	„	„	„	„	0,31 „

Vom 16. Sept. bis zum 29. Sept. war das Ruhrbett an dieser Stelle bis in die Nähe der Mündung vollkommen trocken.

Unterhalb der Mülheimer Schleuse lagen damals 4 große Wasserwerke, von denen allerdings die beiden letzteren nicht nur auf die Wasserführung der Ruhr selbst, sondern daneben auf das Grundwasserreservoir der Rheinalluvion angewiesen sind. Es konnte ja nicht ausbleiben, nach den geschilderten Verhältnissen, daß gerade die beiden oberen Pumpstationen[1]) in Wassersnot gerieten. Da aber bei beiden nach Lage der Verhältnisse eine wesentliche Einschränkung der Förderung nicht möglich war, blieb als erster Ausweg nichts anderes übrig, als durch Errichtung von Staudämmen in der Ruhr zu versuchen, unterhalb der M. Schleuse das im wesentlichen aus der Stadt M. noch zufließende Wasser anzustauen und so nach Filtration durch den Boden den Brunnengalerien zuzuführen. Da dieses Wasser fast ausschließlich als Abwasser anzusprechen ist, verschlechterten sich die Ergebnisse der Wasseruntersuchungen sehr, und es wurde daraufhin durch öffentliche Bekanntmachung vor dem Genuß des Wassers in ungekochtem Zustande gewarnt. Es würde zu weit führen, alle weiteren Maßnahmen hier anzuführen, die die Leitung der Werke getroffen hat, um Wasser zu liefern. Das verhinderte leider nicht, daß von Ende September in der Stadt M., in Teilen der Kreise H. und O., ferner in den zum Kreise R. gehörenden Gemeinden H., B. und Gl., endlich in A. Typhusepidemien auftraten. Im ganzen hat die Zahl der auf gemeinschaftliche Ursache zu annähernd der gleichen Zeit erfolgten Typhuserkrankungen rund 1500 betragen. Zwar ist die Häufung der Fälle in den einzelnen Gemeinden nicht ganz gleichmäßig erfolgt; in D., H. und M. sind die ersten Meldungen über Typhuserkrankungen in der ersten Hälfte des Monats September, in den befallenen Gemeinden des Kreises R. in der zweiten Hälfte des Monats September erfolgt. Das ist vielleicht damit zu erklären, daß in einzelnen Gemeinden die Diagnose der Typhushäufung schneller gestellt war als in anderen Gemeinden. Sehr interessant war nun, daß einzig und allein in der am weitesten entfernt gelegenen Gemeinde D., die ebenfalls zum Kreise R. gehört, von etwa 7000 Einwohnern, die ebenfalls vom gleichen Wasserwerk versorgt wurden, keine Typhusfälle auftraten. Das kann nicht gut mit der Kleinheit der Gemeinde erklärt werden, denn während im übrigen Versorgungsgebiet bei rund 300000 Menschen 5 pro Mille Typhuserkrankungen auftraten, war D. in der fraglichen Zeit ganz frei von Typhus. Auch die Wasseruntersuchungen zeigten von den anderen Gebieten abweichende Resultate. Während in allen Orten, in denen Typhusfälle auftraten, sehr hohe Keimzahlen zur Beobachtung kamen, waren sie zunächst in D.

1) die übrigens in ihren Versorgungsgebieten schon damals immer sich gegenseitig aushalfen und jetzt vereinigt sind.

nicht besonders hoch, stiegen dann an, um später längere Zeit so hoch zu bleiben wie in den übrigen Teilen des Gebiets. Die Abnahme der Keimzahlen in den übrigen Teilen des Gebiets war zunächst bewirkt dadurch, daß dem Leitungswasser in recht großen Mengen Chlorkalk regelmäßig zugesetzt wurde (bis zu 7 g pro Kubikmeter), so daß dadurch in den typhusbetroffenen Orten die Keimzahl herunterging. Diese Chlorkalkwirkung ließ sich aber in der Gemeinde D. nicht feststellen, so daß wir damals und auch heute noch annehmen, daß die Gemeinde D. durch eine besondere Leitung aus einigen Brunnen dieses Wasserwerks, die eben nicht mit Typhusbazillen verseucht waren, versorgt wird. Nur so ist es unserer Auffassung nach zu erklären, daß eben ein Teil des versorgten Gebiets typhusfrei blieb bei der Verseuchung wenigstens des größten Teils des dortigen Wasserwerks. Eine volle Aufklärung ließ sich in diesem Falle nicht gewinnen. Das ist aber auch nicht zu verlangen, wenn man bedenkt, daß es sich bei den Ermittelungen über die Ursache von Typhusepidemien durchaus nicht einzig und allein um wissenschaftliche Feststellungen handelt, sondern daß die Frage, ob eine gegebene Typhusepidemie auf Wasserleitungen zurückzuführen ist, für die Wasserwerke selbst und deren verantwortliche Leiter unter Umständen straf- und zivilrechtliche Folgen erheblicher Art haben kann.

Die gleiche Erscheinung, daß nur ein Teil des Wasserwerks mit Typhusbazillen verseucht wird und daß das Versorgungsgebiet nicht gleichzeitig aus allen Brunnen und Anlagen des Werks, sondern nur etwa aus einem Teil versorgt wird, hat auch bei der großen Typhusepidemie, die im Jahre 1901 in Gelsenkirchen auftrat, eine Rolle gespielt. Hier war, wie das auch von einer großen Reihe von anderen Wasserwerken vorher geübt wurde, ein Stichrohr in Benutzung, das unfiltriertes Ruhrwasser förderte und zwar in Mengen, die bis zu 30000 cbm pro Tag ausmachen konnten. Dieses Stichrohr ging in einen der drei Sammelbrunnen hinein. Bei einer bestimmten Schieberstellung wurde nun ein Teil des Versorgungsgebietes mit stichrohrwasserfreiem, der andere Teil mit gemischtem Wasser versorgt. Bei der Oeffnung eines bestimmten Schiebers ging das mit Stichrohrwasser gemischte Wasser in den Hochbehälter bei F., der die typhusfrei gebliebenen Ortschaften versorgte, bei Schluß des Schiebers dagegen in den Hochbehälter in L., von dem die typhusverseuchten Ortschaften abhängig waren. In den Orten, die von dem L-Hochbehälter abhingen, traten in der Zeit von Mitte September bis Ende Oktober rund etwa 5500 Typhusfälle auf, zirka 11—12 $^0/_{00}$ der Einwohnerzahl des Gebiets. Es ist noch wohl in Erinnerung, daß in dem an die Typhusepidemie sich anschließenden Prozeß Meinungsverschiedenheiten auftraten darüber, ob der fragliche Schieber geöffnet oder geschlossen gewesen wäre und ob das Stichrohrwasser in das verseuchte oder unverseuchte Gebiet geflossen sei. Wenn auch vor Gericht diese Verhältnisse nicht restlos geklärt werden konnten, so steht doch für mich fest, daß es sich damals um eine Trinkwasserleitungsepidemie gehandelt hat, daß infolge der Kompliziertheit unserer Wasserversorgungsverhältnisse nur eben nicht das ganze Versorgungsgebiet, sondern nur ein Teil desselben mit Typhusbazillen infiziert gewesen ist.

Noch in zwei anderen Fällen habe ich die Vermutung gehabt, daß im hiesigen Gebiet auf die Verseuchung der Zentralwasserleitung eine geringe Anzahl von Typhusfällen hat zurückgeführt werden können. Doch

habe ich seiner Zeit das Material nicht so vollkommen mir beschaffen können, um über diese Frage auch nur einigermaßen Sicherheit zu bekommen; ich möchte es daher vermeiden, auf diese Fälle näher einzugehen. Es lag mir heute nur daran, zu zeigen, daß unter Umständen die Typhusepidemien einen ganz anderen Verlauf nehmen können, als wie in den Lehrbüchern geschildert wird. Zur Erklärung dieses Umstandes muß man bedenken, daß eben die Typhusverseuchung ganz verschieden zustande kommen kann. Das eine Mal tritt eine einmalige massive Infektion der Wasserleitung auf; es erkranken dann eine verhältnismäßig große Anzahl der Bevölkerung an Typhus[1]). Die Epidemie nimmt dann aber auch sehr rasch wieder ab. Dauert die Infektion der Wasserleitung aber längere Zeit an, oder wiederholt sie sich mehrfach hintereinander, so bekommt das Bild der durch Wasser bedingten Typhusepidemie ein ganz anderes Aussehen. Ja, es kann dann sogar bis zu einem gewissen Grade eine chronische Typhushäufung die Folge sein. Findet die Infektion nicht mit großen Mengen, sondern mit verhältnismäßig geringem Infektionsmaterial statt, so ist die Folge, daß auch nur ein verhältnismäßig kleiner Teil der Bevölkerung, in mehreren Fällen nur etwa 0,2 bis 0,3 $^0/_{00}$, erkrankten. Sehr schwierig zu beurteilen ist die Frage, ob unter Umständen auch nur ganz wenige, ja, bei ganz geringer Verseuchung der Wasserleitung einzelne Personen an Typhus erkranken können. Gerade für unsere Verhältnisse spielt diese Frage eine recht große Rolle, schon mit Rücksicht darauf, ob man den Wasserwerken raten soll, gegebenenfalls auch zu ganz normalen Zeiten, in denen die Keimzahl gering ist, dem Trinkwasser Chlor zuzusetzen. Mit Sicherheit wird diese Frage nie beantwortet werden können. Bisher haben wir uns noch nicht davon überzeugen können, daß unter normalen Verhältnissen an der Ruhr, wenn die bakteriologischen Untersuchungsergebnisse günstig sind, wenn kein Hochwasser oder Neuinbetriebnahme von einzelnen Anlagen stattgefunden hat, auf Wassergenuß Typhusfälle zurückzuführen sind, und wir haben uns deshalb auch nicht dazu entschließen können, für diese Möglichkeit den Wasserwerken Verhaltungsmaßregeln anzuraten. Im Gegenteil, ich stehe durchaus auf dem Standpunkt, daß im allgemeinen unsere Wasserverhältnisse auch in dem viel geschmähten Ruhrgebiet so sind, daß sie, abgesehen von besonderen Umständen, keinerlei Typhusverbreitung ermöglichen. Für diese besonderen Umstände aber ist, wie ja wohl bekannt sein dürfte, hier die Einrichtung getroffen, daß dann die sämtlichen Wasserwerke für die Zeit der Verschlechterung ihres Wassers dem Wasser Chlor zusetzen und zwar mit dem Erfolg, daß wir jetzt nach etwa 15jähriger Ausprobierung des Verfahrens sagen können, daß sich für unsere Verhältnisse das Verfahren durchaus bewährt hat.

Es lag mir daran, hier daran zu erinnern, daß gelegentlich auch die durch Verseuchung von Wasserleitungen hervorgerufenen Typhusepidemien atypisch sein können. Es scheint mir, als ob diese Erfahrung in den letzten Jahren an manchen Stellen nicht genügend beachtet ist. Während man früher ganz sicher mit einer gewaltigen Uebertreibung

1) Bei einer in einer dörflichen Ortschaft des Sauerlandes beobachteten Verseuchung einer kleinen dörflichen Wasserleitung haben wir, wie oben erwähnt, gelegentlich plötzlich etwas über 20 Proz. der Bevölkerung an Typhus erkranken sehen; bei der Choleraepidemie in Nietleben im Jahre 1892, bei der es sich nach Gärtner um eine wiederholte Infektion der Leitung handelte, erkrankten über 12 Proz. der auf die Leitung angewiesenen Personen.

jeden Typhusfall der Wasserversorgung in die Schuhe schob, scheint mir in den letzten Jahren, wenigstens an vielen Stellen die Neigung vorzuherrschen, nun alle Typhushäufungen auf andere Ursachen zurückzuführen, Milch, Fleisch, Nahrungsmittel, Kontaktinfektionen. Das richtige ist zweifellos, daß man auch bei der Deutung von Typhusepidemien nicht schematisch vorgehen darf, sondern streng jeden einzelnen Fall individualisieren muß, um zu einem richtigen Urteil über ihre Ursache zu kommen. Ich glaube, daß es richtig ist, auch den Wasserverhältnissen gewissermaßen prophylaktisch an manchen Stellen mehr Aufmerksamkeit zu schenken, als das in den letzten Jahren, vielleicht unter Einwirkung des Krieges und seiner Folgen, geschehen ist.

Aussprache.

Gegenbauer (Wien): Als ein klassisches Beispiel für den Einfluß der Art der Wasserversorgung auf die Ausbreitung des Typhus in einer großen Stadt möchte ich den Gang der Typhussterblichkeit in Wien in den Jahren 1851 bis 1923 erläutern.

In den Jahren 1851 bis 1873 standen der Bevölkerung von Wien als Wasserspender hauptsächlich die in den Jahren 1836 bis 1843 errichtete Kaiser-Ferdinands-Wasserleitung und Hausbrunnen zur Verfügung. Daneben bestanden noch einige kleinere Wasserleitungen, die Wasser aus den Quellen des unmittelbar an die Stadt grenzenden Teiles des Wienerwaldes führten. Die Kaiser-Ferdinands-Wasserleitung wurde durch ein am Donaukanal gelegenes Wasserwerk mit Wasser aus der neben dem Donaukanal befindlichen Schotterzone und mit „künstlich" filtriertem Donaukanalwasser gespeist. Ueber die Beschaffenheit des von diesem Wasserwerk gelieferten Wassers gibt ein Befund aus dem Jahre 1875 Aufschluß. Damals wurden in diesem Wasser Ammoniak, Salpetersäure, größere Mengen Chlor, Leinen- und Baumwollefasern, Schafwollefasern, Vogelfedern gefunden. Dieser Befund zeigt, wie hochgradig dieses Wasser, das bei der Eröffnung des Wasserwerkes als „eine Quelle des Segens für die Hauptstadt" bezeichnet wurde, verunreinigt war. Es wurde einfach ganz ungenügend filtriertes Donaukanalwasser geliefert. Das Wasser dieser Wasserleitung versorgte die allgemein zugänglichen Auslaufbrunnen (zuletzt 264) und einzelne öffentliche und private Gebäude (zuletzt 700 gleich 6 Proz. von beiläufig 12000 vorhandenen Häusern). In der überwiegenden Mehrzahl der Häuser waren Hausbrunnen (zuletzt 11000) vorhanden.

Die Abfallstoffe wurden in dieser Zeit durch Kanäle in Sammelkanäle geleitet, die unterhalb des Wasserwerkes der Kaiser-Ferdinands-Wasserleitung an mehreren Stellen noch innerhalb des bewohnten Stadtgebietes in den Donaukanal mündeten.

In dieser Zeitperiode finden wir als Folge der schlechten Wasserversorgung eine sehr hohe Typhussterblichkeit.

Die ausgewiesenen jährlichen Todesfälle an Typhus schwankten zwischen 412 (Jahr 1864) und 1584 (Jahr 1855); als Mittelwert ergeben sich 845 jährliche Fälle. In den beiden Volkszählungsjahren (1857 und 1869) betrug die Typhussterblichkeit auf 1000 Einwohner 2,10 bzw. 1,16.

Bei den in dieser Zeitperiode ausgewiesenen jährlichen Todesfällen an Typhus sind bis zum Jahre 1867 auch die Todesfälle an Flecktyphus inbegriffen; erst vom Jahre 1867 werden diese gesondert angegeben. Dieser Umstand bedingt natürlich einen Fehler nach oben. Dieser Fehler dürfte jedoch nicht allzugroß sein. Einerseits wurde in der damaligen Zeit mit der Diagnose Flecktyphus sicherlich nicht nur Fleckfieber, sondern auch roseolareicher Bauchtyphus bezeichnet, wie man wohl aus den häufigen Angaben der älteren Berichte, daß als Flecktyphus diagnostizierte Fälle sich bei der Sektion als Bauchtyphen herausstellten, und daß eine stärkere Ausbreitung von Typhus mit vielen Fällen von Flecktyphus sich an Hochwasser und Ueberschwemmungen, besonders im Donauinundationsgebiet, angeschlossen haben, schließen darf. Andererseits scheinen die Flecktyphusfälle im allgemeinen nur eine geringe Zahl der Gesamttyphusfälle ausgemacht zu haben, wie aus der Zeit der getrennten Ausweisung zu ersehen ist. Unter den ausgewiesenen Gesamttyphusfällen der Jahre 1868—1883 machten die Flecktyphusfälle in Prozenten aus: 0,3; 0,0; 0,0; 17,0; 0,5; 2,0; 0,8; 27,0; 2,0; 2,9; 6,0; 5,4; 2,0; 13,7; 17,8; 8,6. Bei besonders starken Anstiegen der Gesamttyphusfälle, wie in den Jahren 1855—1858 (1584, 1546, 1080, 1164), dürfte allerdings Fleckfieber mit einem größeren Anteil beteiligt gewesen sein.

Rechnet man in der eben besprochenen Zeitperiode auch ab 1867 die Todesfälle an Flecktyphus zu den Typhustodesfällen dazu, so ergibt sich ein Mittelwert von 854 jährlichen Fällen, der nur um wenig höher ist als der früher angegebene.

Zu Ende des Jahres 1873 wurde durch die neu erbaute I. Hochquellenwasserleitung das Wasser der im Schneeberggebiet entspringenden Quellen „Kaiserbrunn" und „Stiexnstein" in das bestehende Verteilungsnetz der Kaiser-Ferdinands-Wasserleitung eingeleitet und das Wasserwerk am Donaukanal, das bisher dieses Verteilungsnetz gespeist hatte, außer Betrieb gesetzt. Die Hauseigentümer wurden vom Magistrate aufgefordert, das Hochquellenwasser in ihre Häuser einzuleiten. Um dieses Einleiten zu beschleunigen, wurde eine möglichst ausgedehnte Revision der Hausbrunnen vorgenommen und in allen jenen Fällen, in denen das Wasser der Brunnen auf Grund des Ergebnisses der chemisch-mikroskopischen Untersuchung als gesundheitsschädlich bezeichnet wurde, den Hauseigentümern das Einleiten des Hochquellenwassers von amtswegen aufgetragen. Hierdurch wurde erreicht, daß innerhalb des Jahrzehntes 1874—1883 9926 von den vorhandenen 12 464 Häusern, d. i. 80 Proz. der Häuser Wiens, mit Hochquellenwasser versorgt waren.

Nach Fertigstellung der I. Hochquellenwasserleitung und Einleiten des Hochquellenwassers in das bestehende Leitungsnetz der Kaiser-Ferdinands-Wasserleitung sank die Typhussterblichkeit sofort. Während im Jahre 1873 726 Personen an Typhus und 16 Personen an Flecktyphus starben, betrug im Jahre 1874 die Zahl der Typhustodesfälle nur mehr 372, jene der Flecktyphusfälle 3. Die Typhustodesfälle schwankten in den folgenden neun Jahren, in denen es alllmählich zur Versorgung des Großteiles der Wiener Häuser mit Hochquellenwasser kam, zwischen 149 (Jahr 1880) und 351 (Jahr 1875) bzw. die Typhus- und Flecktyphustodesfälle zwischen 152 (Jahr 1880) und 402 (Jahr 1875). Als Mittelwert ergeben sich für die Jahre 1874—1883 229 bzw. bei Hinzurechnung der Flecktyphustodesfälle 245 jährliche Fälle. In dem Volkszählungsjahr 1880 betrug die Typhussterblichkeit auf 1000 Einwohner 0,21, war also gegenüber dem letzten Volkszählungsjahr unmittelbar vor Einleitung des Wassers der Hochquellen (1869) auf beiläufig $^1/_5$ gesunken.

In die eben besprochene Zeitperiode fallen zwei bemerkenswerte Ereignisse, welche ebenfalls den Zusammenhang von Typhusausbreitung und Art der Wasserversorgung gut zum Ausdruck bringen.

Im Jahre 1875 mußte wegen Wassermangels zeitweise das Wasserwerk am Donaukanal wieder in Betrieb gesetzt werden. Außerdem trat im Frühjahr dieses Jahres ein ziemliches Hochwasser auf, durch welches die Brunnen der an der Donau gelegenen Stadtteile verunreinigt wurden. Als Folge dieser Ereignisse ist ein Ansteigen der ausgewiesenen Typhus- und Flecktyphustodesfälle von 375 im Jahre 1874 auf 402 im Jahre 1875 zu verzeichnen. Im Physikatsbericht dieses Jahres heißt es: „Die Uebelstände, welche das Fehlen von einigermaßen genießbarem Trinkwasser in den in den Ueberschwemmungsgebieten der Donau gelegenen Häusern nach dem Hochwasser in den ersten Monaten des Jahres 1875 herbeiführte und die sich nicht nur durch das vermehrte Auftreten von Typhus, selbst in seiner exanthematischen Form, sondern auch durch zahlreiches Vorkommen von Magen-Darmerkrankungen kundgaben und gegen die selbst das durch längere Zeit mit großen Kosten veranlaßte Zuführen von Wasser der Hochquellenleitung sich ohnmächtig erwies, drängten das Stadtphysikat, den Gemeinderat zu ersuchen, die Lagerung der Röhrenleitungen zu beschleunigen".

Vom 26. Dez. 1876 bis 10. Febr. 1877 mußte wiederum wegen Wassermangels das Wasserwerk am Donaukanal in Betrieb gesetzt und in die Rohrstränge einzelner Stadtteile statt Hochquellenwasser das mangelhaft filtrierte Donaukanalwasser eingeleitet werden. Dies hatte wieder ein starkes Ansteigen der Typhuserkrankungen in den Monaten Februar und März des Jahres 1877 zur Folge.

Es betrug die Zahl der gemeldeten Typhusfälle

im Januar	31
„ Februar	340
„ März	346
„ April	95
„ Mai	45
„ Juni	36

Verzeichnet man die gemeldeten Fälle getrennt nach Gassen, in denen zeitweise das Hochquellenwasser durch das vom Wasserwerk am Donaukanal geförderte Wasser ersetzt wurde (a) und in denen dies nicht der Fall war (b), so ergibt sich folgende Zusammenstellung:

	a	b
Januar	19	22
Februar	279	60
März	261	85
April	55	40
Mai	24	21
Juni	24	12

Aus diesen Zusammenstellungen ist zu ersehen, daß sich der Anstieg der Typhuserkrankungen an ein länger dauerndes Einleiten des mangelhaft filtrierten Donaukanalwassers anschloß, und daß der Anstieg hauptsächlich die Bevölkerung jener Gassen betraf, in deren Rohrnetz dieses Wasser eingeleitet wurde.

Von der Wiener Garnison erkrankten in diesem Jahre in der Rudolfkaserne, welche in einem jener Stadtteile lag, der zeitweise mit dem vom Wasserwerk am Donaukanal geförderten Wasser versorgt wurde, 80 Mann an Typhus, dagegen in der durch das ganze Jahr mit Hochquellenwasser versorgten Franz-Josef-Kaserne nur 2 Mann.

Die Zahl der Todesfälle an Typhus betrug im Jahre 1877 337, jene an Flecktyphus 10, gegenüber 267 bzw. 5 im vorübergehenden Jahre.

Mit Recht gibt der Physikatsbericht die Schuld an dem Anstieg der Typhuserkrankungen im Jahre 1877 dem Einleiten des vom Wasserwerk am Donaukanal gelieferten Wassers in die Rohrstränge einzelner Stadtteile.

Im Jahre 1878 wurde bei Pottschach ein Schöpfwerk fertiggestellt, welches durch vier Brunnen Grundwasser aus dem neben dem Schwarzaflusse dahinziehenden Grundwasserstrome entnimmt. Hierdurch wurde dem Wassermangel wenigstens für einige Zeit abgeholfen.

Bei der in den Jahren 1881—1883 ausgewiesenen größeren Anzahl von Todesfällen an Flecktyphus (171, 187, 157) dürfte es sich wohl in der überwiegenden Mehrzahl um Fälle von Fleckfieber gehandelt haben, da diese Fälle in Arresten, Massenquartieren und im Polizeigefangenenhaus vorkamen und auf eine Einschleppung durch Arrestanten aus Mähren zurückgeführt wurden.

Seitdem der Großteil der Wiener Häuser mit Hochquellenwasser versorgt war (seit 1884), war die Typhussterblichkeit andauernd niedrig. Die Zahl der jährlichen Todesfälle an Typhus schwankte zwischen 42 (Jahr 1912) und 177 (Jahr 1918). Als Mittelwert ergeben sich für die letzten 40 Jahre 83 jährliche Fälle. In den Volkszählungsjahren 1890, 1900, 1910, 1920, 1923 betrug die Typhussterblichkeit auf 1000 Einwohner 0,06 bzw. 0,08; 0,04; 0,06; 0,03, ist somit gegenüber dem letzten Volkszählungsjahr unmittelbar vor Fertigstellung der I. Hochquellenleitung auf $^1/_{14}$ bis $^1/_{40}$ gesunken.

Im Krieg und in der ersten Nachkriegszeit kam es durch häufige Einschleppungen von auswärts und durch sich daran anschließende Kontaktinfektionen zu einem vorübergehenden Anstieg der Typhustodesfälle.

In den letzten 40 Jahren wurde die Wasserversorgung von Wien durch Erweiterung des Pottschacher Schöpfwerkes (1885 drei weitere Brunnen, 1900 ein weiterer Brunnen), durch Einleiten des Wassers weiterer Quellen aus dem Rax-Schneeberggebiet in die I. Hochquellenwasserleitung (1897), durch die Errichtung des Schöpfwerkes in Matzendorf (1909), durch den Bau der II. Hochquellenwasserleitung, welche Quellwasser aus dem Hochschwabgebiet nach Wien führt (vollendet 1910) und durch Einleitung des Wassers der in der Nähe von Mariazell gelegenen Brunngrabenquellen, deren Nährgebiet ein dem Hochschwabstocke vorgelagerter Gebirgszug bildet, in die II. Hochquellenwasserleitung (1923) ausgebaut. Durch diese im vergangenen Jahre durchgeführte Einbeziehung der wasserreichen Brunngrabenquellen hofft man von nun an auf das von den Wasserwerken Pottschach und Matzendorf gelieferte Wasser verzichten zu können.

Die Kanalisation hat in dieser Zeitperiode eine weitere Ausgestaltung erfahren. Wegen der starken Verschmutzung des Donaukanales durch die innerhalb des bewohnten Stadtgebietes einmündenden Sammelkanäle wurden rechts und links vom Donaukanal zwei Hauptsammelkanäle erbaut, welche nun alle Abwässer außerhalb des bewohnten Stadtgebietes dem Donaukanal zuführen. Die Fertigstellung des linken Hauptsammelkanals erfolgte im Jahre 1893, jene des rechten im Jahre 1904. Das Kanalwasser erfährt durch seine Einleitung eine Verdünnung von mindestens 1:200.

Durch die gegenwärtige Wasserversorgung werden der Wiener Bevölkerung täglich im Durchschnitt 300000 Kubikmeter Wasser (100000 durch die erste Hochquellenwasserleitung, 200000 durch die zweite Hochquellenwasserleitung) zugeführt, so daß auf den Kopf der Bevölkerung ungefähr 160 Liter Wasser kommen. Die

Verteilung des Wassers erfolgt derart, daß der Großteil der Wiener Bevölkerung Mischwasser beider Hochquellenwasserleitungen, der Rest Wasser der II. Hochquellenwasserleitung erhält. Die chemische Zusammensetzung ist im Ueberschlag eine ziemlich konstante. Es beträgt im Mittel

	beim Mischwasser beider Hochquellenwasserleitungen	beim Wasser der II. Hochquellenwasserleitung
Abdampfrückstand	140,0	110,0
Härte	7,3	6,3
Oxydierbarkeit	3,0	3,0

Die Keimzahl und die Colizahl zeigt zur Zeit der Schneeschmelze, nach länger dauernden Landregen und nach kurzen heftigen Regengüssen ein vorübergehendes Ansteigen. Es weist eben der Boden des Nährgebietes, wie meistenteils in den Kalkalpen, eine mangelhafte Filtrationskraft auf. Das Einzugsgebiet ist durch eine entsprechend große Schutzzone, welche durch eine eigene städtische Forstverwaltung bewirtschaftet wird, und durch einen bergbaulichen Schutzrayon, innerhalb welchem der Schurf- und Bergbaubetrieb teils eingeschränkt, teils untersagt ist, gesichert. Daß der geschaffene Schutz des Quellgebietes unter den gegenwärtigen Verhältnissen hinreichend ist, beweist die geringe Typhusmorbidität und Typhusmortalität der letzten vierzig Jahre.

---

20. Vortrag. Rud. Oehler (Frankfurt a. M.):

Symbiose und kommende Zelltheorie [1]).

Die alte Zelltheorie, wie sie von Virchow in die Pathologie eingeführt wurde und seitdem Allgemeingut der Aerzte und Biologen ist, genügt nicht mehr. Auch was Hertwig[2]) unter dem Namen „Artzelle" in die Biologie einführt, ist alte Zelltheorie. Denn Artzelle ist gleichbedeutend mit einkerniger, unzerlegbarer, vom Kern aus geleiteter und bestimmter Zelle.

Demgegenüber sagt Faminizyn[3]):

„Die gangbare Auffassung der Zelle (vgl. O. Hertwig, Allgemeine Biologie) behauptet 1): Alle Zellen zeigen den Gegensatz von Kern und Protoplasma. 2) Manche Zellen besitzen noch den Sonderkörper des Zentriols, welcher bei der Zellteilung eingreift. 3) Alle anderen Zelleinschlüsse werden als Absonderungen des allgemeinen Protoplasma angesehen."

Dem entgegnet Faminizyn: „1) Es gibt kein allgemeines Vorbild für den Bau der Zelle. Es ist nicht wahr, daß der Kern sich ausnahmslos in allen Zellen nachweisen läßt. Doflein (Lehrbuch der Protozoenkunde) hat entgegen Hertwig versichert, es gäbe eine ansehnliche Zahl von zelligen Protozoen, die keinen Kern aufweisen. Er nennt sie Chromidialzellen oder Moneren."

„2) Es ist unbewiesen, daß die Körnelungen des Protoplasmas Erzeugnisse sein sollen, die aus der allgemeinen Protoplasmamasse entstehen."

---

1) Verlesen durch Collier (Frankfurt a. M.).

2) Hertwig, O., Das Werden der Organismen. Jena 1916. S. 125, 158, 159. An anderen Stellen, wie S. 32—33 und S. 538—539, spricht Hertwig von der Zelle in einer Weise, die sich der hier vorgetragenen Ansicht ganz wohl anschließt.

3) Faminizyn, A., La symbiose et l'évolution des organismes. C. r. soc. biolog. 1915. 297.

Faminizyn fährt dann fort: „Eine neue Zelltheorie auf Grund der Symbiosenforschung ist daran, sich auszubilden."

„Man muß annehmen, daß der symbiontische Stand eine Rolle spielt, nicht nur bei der geschichtlichen Entwicklung der Tier- und Pflanzenarten, sondern auch bei der Zelle."

„Die Auffassung der Zelle als Symbiontengefüge ist gegenwärtig noch nicht durch endgültige Tatsachen zu belegen. Immerhin ist es ein Schritt auf dem Wege, wenn man sich entschließt, den Sexualakt als eine Symbiontenvereinigung aufzufassen. Die Symbiontentheorie der Zelle wird aufgestellt als Anregung zur Forschung in dem Sinne, daß die Zelle aus vielen selbständigen, sich teilenden, wachsenden und arbeitenden Teilen besteht, die wohl auch experimentell getrennt und anderswie vereinigt werden können. Ist die geschichtliche Ausbildung der Zellarten eine Folge von Symbiontenvereinigung und Symbiontentrennung, dann erwächst die Möglichkeit einer Systematik, die sich, entsprechend der chemischen Systematik, auf die biologische Synthese und Analyse von artbildenden Grundständen der Lebewesen gründet. Es kann dann ein System ausgearbeitet werden, welches sich auf dem Zusammenschluß biologischer Urkörper aufbaut."

Es lohnt, auf diese Leitsätze genauer einzugehen.

1) „Es gibt kein allgemeines Vorbild für den Bau der Zelle."

Das ist ein hartes Wort.. Die zusammenfassende Beschreibungsforschung wird trotz dieser Absage nicht aufhören, nach einem solchen Vorbilde zu suchen.. Und wenn Faminizyn, dem wir darin getreulich folgen, die Zelle als Symbiontengefüge auffaßt, so scheint mir auch darin ein allgemeines Vorbild für den Bau der Zelle gewagt zu sein.

Das neue Vorbild ist lockerer als das alte; und wir hoffen, zu zeigen, daß es den heute schon bekannten Tatsachen besser entspricht als das alte. Dagegen bin ich geneigt, den Faminizynschen Satz auf die Lehre von der allgemeinen Protoplasmamasse zu übertragen. Wenigstens möchte ich warnen, nach einem allgemeinen Vorbild für den Bau des Protoplasmas zu suchen. Wenn wir die in die Zelle eingelagerten Körner, Fäden, Blasen und Höhlungen besonders benennen, dann ist das allgemeine Protoplasma nichts anderes als die noch nicht in besondere Einlagerungskörper abgeteilte Grundmasse der Zellen. Daß diese Grundmasse kolloiden Bau aufweist, ist wohl begründete Allgemeinaussage. Sie genügt vorerst. Es ist nicht gut, weiter auf den Schaum- und Gitterbau des Protoplasmas einzugehen und die Meinungen da festzulegen. Ich vermute, solches wollte Faminizyn sagen, wenn er ausspricht: Es gibt kein allgemeines Bild für den Bau der Zelle.

2) „Die Auffassung der Zelle als Symbiontengefüge ist gegenwärtig noch nicht durch endgültig beweisende Tatsachen zu belegen."

Hier möchte ich weiter gehen als Faminizyn und behaupten, daß heute schon gewichtige Tatsachen in reichlicher Fülle vorliegen, welche die Auffassung der Zelle als Symbiontengefüge nicht nur möglich, sondern sogar wahrscheinlich und für die fortschreitende Forschung verwendbar machen. Es sind das vor allem die im Plasma liegenden und hier selbständig wachsenden, sich teilenden und vermehrenden Körner und Fäden der Plasten und Mitochondrien, welche durchaus Symbiontencharakter zeigen und somit das Plasma der Zelle

als ein Symbiontengefüge erscheinen lassen. Hinsichtlich der Plasten, Chloroplasten und Chlorophyllträger der einzelligen Algen und der grünen Flagellaten ist wohl ausgemacht, daß sie sich selbständig durch Teilungswachstum vermehren, und daß sie vom Kern völlig unabhängig sind. Ist es doch Terez[1]) gelungen, durch Züchtung von Euglena in nährenden Lösungen und lange Verdunkelung die Chloroplasten dieses grünen Flagellaten ganz zum Verschwinden zu bringen. Waren die Chloroplasten einmal verschwunden, so konnte kein Kern sie wieder erzeugen. Eine neue Zellart war entstanden, gekennzeichnet durch das Fehlen der Chloroplasten.

Der Chloroplast lebt in der Euglenazelle wie ein Symbiont. Es fehlt nur noch die Uebertragung dieses Chloroplasten auf eine andere, artfremde Zelle. Der Versuch ist noch nicht gemacht. Aber gerade darin, zu solchen neuernden Versuchen anzuregen, liegt der Wert der Erörterungen über die kommende Symbiontentheorie der Zellen.

Was die Mitochondrien betrifft, so ist zu bedauern, daß die Berichte über diese Plasmaeinlagerungen noch so widerspruchsvoll lauten. Meves, Moreau, Pense, Guillermont, Lewitzky, Forenbacher, Maximow treten dafür ein, daß sie sich durch eigenes Teilungswachstum vermehren. A. Meyer[2]), der sorgsame Analysator der Zelle, spricht trocken aus, daß er all diese Gebilde für aufgespeicherte Eiweißabsonderungen hält, die keine Spur von selbständigem Teilungswachstum verraten. Und in das andere Extrem verfallend, behauptet Portier[3]), alles, was als Mitochondrien beschrieben wird, sei als symbiontische Bakterien aufzufassen. Ihm seien mehrfache Züchtungen gelungen.

Bei solchen Widersprüchen hat Faminizyn nicht Unrecht, wenn er warnt, die Symbiontentheorie heute schon endgültig beweisen zu wollen.

Immerhin darf man hinsichtlich der Mitochondrien auf Aussprüche, wie den Moreaus[4]), hinweisen, der den Satz aufstellt: „Omne mitochondrium e mitochondrio". Nach diesen Lehren gehen aus den Mitochondrien nicht nur die Plasten, Leuko- und Chloroplasten, deren Teilungswachstum lange bekannt ist, hervor, sondern auch die Fasern und Fäden des Plasmas, die Cilien und die Elemente der Muskeln. Auch die Körner der Profermente in den Drüsenzellen stammen nach diesen Lehren von den Mitochondrien. Kurz, alles, was der Zelle ein besonderes Gepräge gibt, stammt von eingelagerten, teilungswachsenden Körnern. Die Mitochondrien spielen also völlig die Rolle einer Kleinzelle in der Zelle. Und sie stammen nicht vom Kern.

Das sind doch mächtige Hinweise auf die kommende Symbiontentheorie der Zelle.

3) „Es ist ein Schritt auf selbigem Wege, wenn man sich entschließt, den Sexualakt als eine Symbiontenvereinigung aufzufassen."

Dem steht an Tatsachen nichts entgegen. Nur die Meinungen der alten Zelltheorie sehen im Zellkern eine Einheit, die zugleich Bürgschaft ist für die feste und unverbrüchliche Einheit der Zelle. An diesem Einheitsglauben, an dieser Unverbrüchlichkeit rüttelt die kom-

---

1) Terez, Beiträge zur Morphologie und Physiologie von Euglena gracilis. Jahrb. wissensch. Botanik. Bd. 51. 1912. S. 435.

2) Meyer, A., Analyse der Zelle. Jena 1920. S. 31, 35, 37, 140.

3) Portier, Les Symbiontes 1918; zitiert von Buchner, Tier und Pflanze in intrazellulärer Symbiose 1921. S. 405.

4) Moreau, F., La division des mitochondries. C. r. soc. biolog. 1915. 143.

mende Zelltheorie. Nach altem Aussagegebrauch ist die Sexualität die Wiederherstellung der vorübergehend getrennten Einheit des Chromosomensatzes im Kern. Die haploiden Zellen der großen Tiere und Pflanzen sind für sich nicht beständig und noch weniger teilungsfähig. Sie sind aus der ungebrochenen Diploidform nur in die Haploidform übergetreten, um zur Amphimixis Gelegenheit zu geben. Es wird angenommen, daß die Amphimixis eine arterhaltende Nützlichkeit hat, da solche bei vielen Arten geradezu unerläßliche Lebenseinrichtung geworden ist. Daß es in vielen Fällen auch ohne Amphimixis geht, und daß in manchen Fällen von künstlicher Parthenogenese die haploiden Zellen gleich anderen Vollzellen doch lebensfähig und fähig zum Teilungswachstum sind, stimmt nicht zu diesen Theorien. Noch weniger die Tatsache, auf die M. Hartmann[1]) an Hand einer Schemazeichnung aufmerksam gemacht hat: nämlich, daß bei den Algen Chlamydomonas, Closterium und anderen die Haploidform die lebenstragende gewöhnliche Daseinsform ist, die nur gelegentlich, ohne Zwang und Bedürfnis, in die konjugierte Diploidform übergeht, welche aber unbeständig ist und bald wieder in die gewohnte Haploidform zurückfällt. Hier ist die Sexualität deutlich ein überflüssiges Symbiontenstadium, das spielend aufgenommen und abgegeben wird.

Ein Symbiontenspiel ist die Sexualvereinigung und die Reifesonderung der Haplonten immer. Ein Spiel, das manchmal gut bekommt und manchmal schlecht. Ganz wie die Symbiose in Parasitismus und Infektion übergeht, so auch die Mischvereinigung der Sexualpartner. „Artgleiche", d. h. durch lange Uebung auf einander eingeschossene Haplonten geben lebensfähige Sexualvereinigung. Mischvereinigung von Haplonten verschiedener Herkunft gibt Bastarde mit Defekten, krüppelhafte Vereinigung und gestörte Entwicklung der Mischlinge. Die Symbiose solcher Haplonten mißlingt.

Da ist es denn nicht belanglos, zu hören, daß Burgeff[2]) die Ansicht vertritt, daß Bastardierung und parasitische Gallenbildung bei den Gametangien bildenden Pilzen wohl ineinander übergehen können. Alles Belege und Hinweise auf die Symbiosentheorie der Zellen.

Soweit die Anregungen Faminizyns.

Ich meine aber, die kommende Zelltheorie muß sich nicht nur um den Symbiontencharakter der sichtbaren Plasten, Mitochondrien, Vakuolen und Chromosomen kümmern. Ich glaube auch, die ultramikroskopisch kleinen Stellen in den Zellen, deren Teilungswachstum nicht gesehen wird, aber erschlossen werden muß, sind ebenfalls als ultramikroskopische Symbionten mit in Rechnung zu ziehen. Die Lehre von den Ultramikroorganismen, ihre Beziehungen zu den ultravisiblen Virusarten, zu den Fermenten und deren Züchtbarkeit spielen auch in die kommende Zelltheorie hinein.

Die kommende Zelltheorie muß die ultravisiblen Virusarten als ultramikroskopische Zellbildungen anerkennen. Sie muß auch Kenntnis davon nehmen, daß bei manchen Fermenten etwas wie eine Züchtungsvermehrung im Zuchtglas nachgewiesen ist. Beispiel: die von Delzenne und Ledbert[3]) im Pankreassaft fortgezüchtete Entero-

1) Hartmann, M., Theoretische Bedeutung und Terminologie der Vererbungserscheinungen bei haploiden Organismen. Ztschr. f. induktive Abstammungs- und Vererbungslehre. Bd. 20. 1918. S. 1.

2) Burgeff, Ztschr. f. Botanik. Bd. 12. 1920. S. 33.

3) Nach Dörr: Die invisiblen Ansteckungsstoffe. Klin. Woch. Bd. 2. 1923. S. 909.

kinase. Auch die Erscheinungen des d'Herelleschen Phänomens führen zu ähnlichen Annahmen. Kleinste teilungswachsende Körper mit fermentativer Kraft sind auch innerhalb der Zellen als lebentragende Kleinstellen anzuerkennen. Aus ihnen wachsen auf: die fermenthaltigen Vakuolen der Phagozyten und Bakteriophagen (Amöben, Ciliaten, Flagellaten). Aber auch die Körner und Tropfen im Plasma, die Farbkörner, die Eiweißmassen, die Leuzin- und Fetttropfen, ferner die Kiesel- und Kalknadeln im Plasma, die Hautgebilde der Zellulose und das Chitin, all diese zelleigenen Absonderungen müssen Abkömmlinge von kleinsten Leistungsstellen sein, die im ultramikroskopischen Stande sich durch Teilungswachstum vermehren: denn trotz der Zellteilung werden sie nicht weniger. Die Zelle ist somit ein unglaubliches Gewimmel von mikroskopischen und ultramikroskopischen Symbionten, die unter Umständen auch experimentell getrennt und umgeordnet werden können. So gut wie es möglich war, Chlorellen aus einem Paramäcium einer Hydra zuzuführen, so gut muß es auch möglich sein, die Kieselnadeln bildenden Kleinstellen einer Schwammzelle auf eine andere zu übertragen und hier zum fortpflanzenden Teilungswachstum zu bringen. Die Symbiontentheorie der Zelle weist auf diese Möglichkeit hin, und es ist Sache des Experimentators, diesen Hinweis aufzunehmen.

Allgemein gesagt: der Experimentator braucht Dinge, die gleich Rechenposten sich hin- und herschieben, sowie zerlegen und zusammensetzen lassen. Nach der Symbiontentheorie sind die Zellen von solcher Art.

21. Vortrag. Bürgers (Düsseldorf):

Zur Scharlachätiologie.

Nachprüfung der Arbeiten von Di Cristina und Caronia. Ueber 300 Kulturen, welche von 35 frischen Scharlachfällen angelegt wurden, ergaben keine fortzüchtbaren Körperchen. Die noch recht zweifelhafte Bedeutung des Scharlacherregers der Italiener wird hoffentlich bald durch die Arbeit einer Mitarbeiterin Caronias in Düsseldorf geklärt.

---

22. Vortrag. R. Otto (Berlin):

Zur Kenntnis des anaphylaktischen Reaktionskörpers.

(Nach Versuchen mit Prof. Shirakawa-Taihoku.)

Bekanntlich läßt sich die Anaphylaxie passiv mit dem Serum vorbehandelter Tiere auf normale Meerschweinchen übertragen. Auf Grund meiner Versuchsergebnisse habe ich als Träger der passiv präparierenden Wirkung einen besonderen Antikörper in dem Serum angenommen, den ich als „anaphylaktischen Reaktionskörper" bezeichnet habe.

Friedberger, Schiff und Moore haben zuerst die Frage geprüft, an welcher Eiweißfraktion des Antiserums die anaphylaktisierende Wirkung haftet. Sie fanden, daß das passive Präparierungsvermögen bei der Trennung mittels Dialyse und Kohlensäure so gut wie völlig in den (von ihnen so bezeichneten) Albuminteil überging, während beim Aussalzen mit Magnesiumsulfat das Präparierungvermögen eine erhebliche Schädigung erlitt und der Rest des Reaktionskörpers in dem Niederschlag nachweisbar war.

Die Ergebnisse von Otto und Sukiennikowa, nach denen das giftige Prinzip der Antihammelblutsera an die Pseudoglobulinfraktion und nicht an die Albuminfraktion (Friedberger und Goretti) gebunden ist, ließen uns zusammen mit den Arbeiten von Ruppel, Ornstein, Carl und Lasch erwarten, daß das Pseudoglobulin auch der Träger des anaphylaktischen Reaktionskörpers sein würde.

Zu der Prüfung dieser Frage wurde eine Reihe von Antiseren gegen Pferde-, Esel- usw. -Serum hergestellt und von Dr. Ornstein elektroosmotisch nach der Methode von Prof. Ruppel gespalten, und zwar einmal in 2 Fraktionen (Euglobulinfraktion und Pseudoglobulin + Albumin-Fraktion), sowie zweitens in 3 Fraktionen (Euglobulin, Pseudoglobulin, Albumin). Bei der passiven Anaphylaktisierung von Meerschweinchen mit diesen einzelnen Fraktionen ergab sich nun, daß der Reaktionskörper bei der ersten Spaltung in der Pseudoglobulin + Albuminfraktion, bei der zweiten in der Pseudoglobulinfraktion saß. Die Euglobulinfraktion war fast, die Albuminfraktion völlig frei von passiv präparierender Wirkung. Allerdings waren bei Berechnung der fraktionsanteiligen Eiweißäquivalente größere Dosen Pseudoglobulinlösung zur völligen Präparierung (mit tödlich endendem Shock bei der nachfolgenden Antigen-Injektion) notwendig, als nach dem Gehalt des Vollserums an Pseudoglobulin zu erwarten war.

Weiterhin haben wir sodann untersucht, in welcher Fraktion sich bei den von uns im Anaphylaxie-Versuch geprüften Seren die Präzipitine fanden. Dabei zeigte sich, daß diese den bisherigen Anschauungen entsprechend nur in der Euglobulinfraktion nachweisbar waren.

(Folgt Demonstration von Tafeln und Tabellen.)

Ich sehe in diesen Befunden einen Beweis für die von mir und verschiedenen anderen Autoren vertretene Ansicht, daß beide Antikörper nicht identisch sind, daß vielmehr der „anaphylaktische Reaktionskörper" ein besonderer Antikörper ist.

(Die ausführliche Mitteilung der Protokolle erfolgt in der Arbeit von R. Otto und T. Shirakawa in der Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. 103.)

Aussprache.

Kraus (Wien): Ich möchte ganz kurz darauf hinweisen, daß in der mit Friedberger geführten Polemik über Anaphylaxie in der Zeitschrift für Immunitätsforschung von uns verschiedene Momente angeführt sind, die einen Zusammenhang der Präzipitine und des anaphylaktischen Antikörpers nicht zulassen. Die von Otto heute angeführten Tatsachen würden unsere Auffassung stützen.

Sachs (Heidelberg): Die von Herrn Otto mitgeteilten Ergebnisse dürften großes Interesse beanspruchen; zeigen sie doch mit aller Deutlichkeit, daß die im

Reagenzglase präzipitierende Wirkung des Antiserums für die passive Anaphylaxie belanglos ist. Andererseits dürfte aber die Frage erörterungsfähig sein, ob sich daraus eine absolute Differenzierung der anaphylaktisierenden und präzipitierenden Antikörper ergibt. Nimmt man an, daß für die Präzipitation eine größere Labilität der Eiweißkörper des Antiserums erforderlich ist, so könnte die Pseudoglobulinfraktion wohl noch Eiweißantikörper enthalten, aber zur Präzipitation wegen ihrer Dispersität nicht mehr geeignet sein. Andererseits könnten die in der relativ feindispersen Quote der Pseudoglobulinfraktion enthaltenen Antikörper bei der passiven Anaphylaxie leichter geeignet sein, zellständig zu werden, als die in dem grobdispersen Anteil der Euglobuline enthaltenen. Es dürfte hiernach die Frage diskussionsfähig sein, ob die von Herrn Otto demonstrierten Verhältnisse für eine Differenzierung von Antikörpern sprechen oder auch durch die Beteiligung sekundärer Momente eine Erklärung finden könnten.

R. Otto (Schlußwort): Die unitarische Auffassung der gegen ein Antigen auftretenden Antikörper ist wohl diskussionsfähig, sie scheint mir aber gerade bei den durch Seruminjektionen gewonnenen Antikörpern noch wenig gesichert.

---

23. Vortrag. H. Biberstein und H. Lubinski (Breslau):

Untersuchungen über Organ- und Artspezifität.

Die Reaktion, die mitunter an Erstinjektionsstellen nach dem gewöhnlichen Intervall von 5—10 Tagen und regelmäßig an den Reinjektionsstellen nach 24 Std. bei Menschen auftritt, denen artfremdes Serum injiziert wurde, haben Biberstein und Oschinsky, beide Phänomene im Wesen gleichstellend, als lokale Serumkrankheit bezeichnet; dementsprechend könnte man die Reaktionen, die Biberstein bei dem Versuche sah, Organproteine durch die intrakutane Sensibilisierung zu differenzieren bzw. zu identifizieren, als lokale Proteinkrankheit bezeichnen.

B. hat bei seinen Versuchen beobachten können, daß unter Umständen die Reinjektion arthomo- und heterologer Extrakte verschiedener Organe bei Sensibilisierten, abgelesen nach 24 Std., Resultate ergibt, die sich nachträglich noch verändern, indem im Laufe mehrerer Tage an den gleichen Reinjektionsstellen Verschiebungen von der anfänglich feststellbaren Organspezifität zur Artspezifität auftreten, wobei die Serumreaktion schließlich das Bild beherrschen kann. —

In den früheren Versuchen waren alle Individuen ungefähr am gleichen Tage nach der sensibilisierenden Injektion reinjiziert worden, und zwar mit allen zu prüfenden Substanzen gleichzeitig. Es schien nun wichtig, zu untersuchen, ob man das Auftreten der Ueberempfindlichkeit gegen diese verschiedenen Stoffe zeitlich dadurch differenzieren kann, daß man die Reinjektionen aller Stoffe an, vom Behandlungsbeginn gerechnet, verschiedenen Tagen bei verschiedenen Menschen vornimmt. Es schien möglich, daß sich dabei zeitliche Unterschiede in dem Auftreten der Ueberempfindlichkeit gegenüber den verschiedenen Antigenen ergeben würden.

Diese Frage haben wir gemeinsam zu beantworten gesucht. Allerdings konnten wir die von B. angewandte Versuchsanordnung nicht ganz innehalten, da es so gut wie unmöglich schien, die erforderliche Anzahl sonst gesunder Menschen (cf. Biberstein und Oschinsky und die dort angeführte Literatur) intrakutan mit einem Organprotein

zu sensibilisieren und lange genug im Versuch behalten zu können. Dagegen stand uns in den auf der Wutschutzabteilung des Hygienischen Institutes behandelten Personen ein Material zur Verfügung, das bei der nach der Pasteurschen Methode durchgeführten Immunisierung mit lyssavirushaltigem Kaninchenrückenmark mit einem zu Sensibilisierungszwecken bereits als brauchbar befundenen Protein sensibilisiert wurde und die erforderliche Zeit hindurch regelmäßig beobachtet werden konnte. Allerdings erfolgt hier die Sensibilisierung durch bekanntlich täglich vorgenommene subkutane Injektionen von Dosen, die im Verhältnis zu den oben erwähnten Versuchen B.s außerordentlich massig zu nennen sind; sie erfolgt mit einem Material, das, wenn auch sehr blutarm, doch nicht von blutfrei gewaschenen Tieren stammt; aber diese Differenzen haben für die Verwertbarkeit der nachfolgenden Versuche kaum eine Bedeutung. Von den täglichen Einspritzungen ist für die Sensibilisierung natürlich nur die erste maßgebend; die weiteren sind, wie auch unsere Resultate beweisen, für die hier aufgeworfene Frage gleichgültig. Die größeren Dosen sind für die Sensibilisierung wohl überflüssig; wie weit sie den Ablauf der Versuche beeinflussen könnten, wird noch erörtert werden. Durch die subkutane Einverleibung könnte vielleicht eine höchstens quantitative Differenz in Aufnahme und Ausscheidung des Antigens bedingt sein; wenigstens könnte man einen solchen Analogieschluß auf Grund der vergleichenden Untersuchungen über intrakutane und subkutane Sensibilisierung mit Serum (Biberstein und Oschinsky) ziehen. Daß aber die Sensibilisierung prinzipiell dadurch nicht beeinflußt wird, geht aus unseren Resultaten hervor. Natürlich liegt es uns besonders im Hinblick auf die allerdings mit Bakterien vorgenommenen Untersuchungen Besredkas fern, die Wege der Sensibilisierung im allgemeinen als gleichgültig und gleichwertig zu erklären.

Waren also wegen unseres Materials Abweichungen von Bibersteins früheren Untersuchungen in bezug auf die Sensibilisierungsmethode nicht vermeidbar, so wurden andererseits zur Prüfung der erlangten Sensibilisierung Kaninchenorganextrakte benutzt, die genau entsprechend den Meerschweinchen- und Rattenorganextrakten von Biberstein und Werner Jadassohn hergestellt waren: Ein narkotisiertes Kaninchen wurde durch Injektion angewärmter physiologischer Kochsalzlösung in die Vena jugularis unter Eröffnung der großen Schenkelvene so lange durchgespült, bis die Spülflüssigkeit klar abfloß. Dabei unterstützte die Pumpkraft des Herzens die Durchspülung ziemlich lange. Die steril entnommenen Organe wurden unter aseptischen Kautelen mit physiologischer Kochsalzlösung im Mörser zu einem dünnflüssigen Brei verrieben, in Reagensgläser gefüllt und 24 Std. bei Zimmertemperatur der Autolyse überlassen; dann wurde der Brei für eine Stunde in ein Wasserbad von 56—60° gestellt, nach kultureller Kontrolle der Sterilität mit Karbollösung bis zu 0,5 Proz. versetzt und im Eisschrank aufbewahrt. Die festen Bestandteile sedimentierten, die überstehende Flüssigkeit wurde zu den Injektionen verwendet. Es ist uns nicht gelungen, Kaninchenorganextrakte zu erlangen, die mit Benzidin so absolut negativ reagierten, wie unsere Meerschweinchen- und Rattenorganextrakte.

Für die Versuche verwendeten wir Extrakte von Kaninchengehirn, -Niere, -Leber, -Muskel, -Herz; Meerschweinchengehirn und -Leber, ferner unverdünntes Kaninchenserum.

40 Personen (27 männliche und 13 weibliche im Alter von 10 bis 69 Jahren) wurden mit der Intrakutanreaktion für einen Zeitraum vom 1.—19. Tag nach der ersten sensibilisierenden Spritze auf ihren Sensibilitätszustand geprüft. Unter den genannten Bedingungen konnte wir keinen Unterschied in der Reaktion feststellen, der durch Geschlecht oder Alter der Versuchspersonen bedingt wäre.

Für die Besprechung der Ergebnisse schalten wir die Bewertung der Serumnachinjektion zunächst aus. Es ergab sich mit einer bei biologischen Versuchen fast als gesetzmäßig zu bezeichnenden Regelmäßigkeit, daß die am ersten und zweiten Tage der Wutschutzbehandlung Stehenden auf intrakutane Nachinjektionen der verschiedenen homo- und heterologen Antigene nicht reagierten. Am dritten bis fünften Behandlungstage ließ sich eine organspezifische Reaktion feststellen, die in 7 von 11 Fällen sich auf Kaninchen- und Meerschweinchengehirn erstreckte, in zwei weiteren nur durch das Meerschweinchengehirn bedingt war.

Die Stärke der Reaktion war so, daß Meerschweinchenhirn zweimal gleich, viermal sogar dem Kaninchenhirn überlegen war. Wie weit etwa die Stärke der Reaktion durch quantitative Unterschiede im Proteingehalt der Extrakte beeinflußt wird, wäre durch weitere Untersuchungen mit quantitativ ausgewerteten zu klären.

Im einzelnen betrachtet, sahen wir niemals als einzige Reaktion die auf das arthomologe Organ, wohl aber, wie erwähnt, zweimal auf das entsprechende artfremde (Meerschweinchengehirn); in 8 von 9 auf Gehirn positiv reagierenden Fällen riefen von allen verwendeten Organantigenen ausschließlich das homo- (6mal) und heterologe (8mal) Gehirn eine Reaktion hervor. In einem weiteren Fall bewirkte außer diesen noch ein anderes arthomologes Organ (Leber) eine Reaktion, ferner reagierte einmal überhaupt nur die homologe Leber. In einem Falle trat eine Reaktion auf Organproteine überhaupt nicht, sondern ausschließlich auf das homologe Serum ein.

Schlagartig ändert sich das Bild vom 6. Tage an nach der ersten Subkutaninjektion: auf keines der intrakutan injizierten arthomologen Antigene bleibt bei der Ablesung nach 24 Std. die Reaktion aus. Ganz vereinzelt nur tritt das spezielle homologe Organ hervor.

9mal ist die Reaktion auf den arthomo- und heterologen Organextrakt gleich, 13mal die auf den arthomologen deutlich stärker als die auf den artheterologen. 2mal ist sie auf den letzteren negativ. 4mal, davon 3mal sehr schwach, war eine Mitreaktion auf einen art- und organheterologen Extrakt (Meerschweinchenleber) festzustellen. Wir müssen es dahingestellt sein lassen, ob diese Reaktionen durch eine schon vorhandene Ueberempfindlichkeit gegen Meerschweinchen bedingt sind.

Zu bemerken ist noch, daß die Intrakutanreaktion den durch die therapeutische Behandlung am 7. bis 12. Tage erzielbaren Reaktionen an der Injektionsstelle (Bauch) nicht parallel zu gehen braucht.

Außer den Organextrakten haben wir, wie erwähnt, auch Kaninchenserum zur Nachinjektion benutzt.

Von den am 1. und 2. Behandlungstag geprüften fünf Personen reagierte keine nach 24 Std. positiv; eine zeigte nach 48 Std. eine schwache Reaktion.

Wie bei den Organextrakten treten auch beim Serum vom 3. Behandlungstage an die ersten Reaktionen auf: von drei geprüften reagiert nur einer, der auf Gehirnextrakt bereits reagiert, nicht; umgekehrt reagiert einer, der noch nicht auf das Organ reagiert, schon auf Serum, der dritte sowohl auf arthomo- und heterologes Gehirn wie auch auf Serum.

Am 4. Behandlungstage reagierten von 5 untersuchten 2 überhaupt nicht auf das Serum, 2 besonders stark, der 5. ebenso stark wie auf das arthomologe Gehirn. Vom 5. Tage an reagieren alle 27 auf Serum,

davon 15 sehr stark, 5 weitere mit am stärksten; die an diesem Tage noch bestehende, von der Tierart unabhängige Organspezifität tritt vom 6. Tage an zurück.

Tag	1. Tag		2. Tag			3. Tag			4. Tag					5. Tag		
Versuchs-Nr.	30.	31.	10.	11.	28.	20.	34.	37.	23.	25.	27.	38.	39.	21.	35.	40.
Kaninchen-Gehirn	0	0	0	0	0	+	(+)	0	(+)	0	+	0	(+)	0	+	+
„ Niere	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0
„ Leber	0	0	0	0	0	0		0	0	(+)	+		0	0		0?
„ Muskel	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0
„ Herz	0	0			0		0	0	0	0	0		0		0	0
„ Serum	0	0	0	0	0	+	0	(+)	++	0	++	0	(+)	++	+	(+)
Meerschw.-Gehirn	0	0	0	0	0	(+)	+	0	+	0	+	+	+	(+)	+	(+)
„ Leber	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0	0	0	0		0

Tag	6. Tag			7. Tag					8. Tag		
Versuchs-Nr.	22.	32.	33.	2.	3.	24.	34.	36.	5.	13.	29.
Kaninchen-Gehirn	+	+	++	++	++	+	+++	+!	++	++	++
„ Niere	+	+		++	++	++	+++	+	++	++	++
„ Leber	(+)	+		++	++	++	++	(+)	++	++	++
„ Muskel	0!	+		++	++	+	++	(+)	++	++	+
„ Herz	0!	+	+++			+	+	+			++
„ Serum	++	(+)	+++	+++	+++	+	+++	++	+++	+++	++
Meerschw.-Gehirn	+	+	++	+	+	+	+	+	+	(+)	+
„ Leber	0	0?		0	0	0	++	0	0	(+)	0

Tag	11. Tag		12. Tag		13. Tag	14. Tag	
Versuchs-Nr.	4.	18.	14.	16.	12.	8.	17.
Kaninchen-Gehirn	++	++	+	++	++	+	+
„ Niere	++	++	+	++	++	+!	++
„ Leber	++	++	+	++	++	+!	++
„ Muskel	++	+	+	+	++	(+)	+
„ Herz							
„ Serum	+++	+++	++	+++	+++	+++	++++
Meerschweinchen-Gehirn	+	+	(+)	+	+	(+)	+
„ Leber	0	+	0	0	0—(+)	0	0

Tag	15. Tag	16. Tag			17. Tag	19. Tag
Versuchs-Nr.	15.	1.	6.	7.	19.	9.
Kaninchen-Gehirn	+	+	+	+	+	++
„ Niere	++	+	++	++	+	++
„ Leber	++	+	++	++	+	++
„ Muskel	+	+	+—++	+?	(+)	+
„ Herz						
„ Serum	++++	++	++	+++	++	+++
Meerschweinchen-Gehirn	+	0	0	+	+	++
„ Leber	0	0	0	0	0	+?

Wir sind auf Grund dieser Beobachtungen um so geneigter, dem Serum eine Sonderstellung zuzuerkennen, als 1) in den Versuchen Bibersteins intrakutane Injektion von Serum nicht zur Sensibilisierung gegen Organproteine führte, 2) auch dort insofern Serum- und Organprotein-Ueberempfindlichkeit in einer Art von Wechselbeziehungen zu stehen scheint, als da, wo Organreaktionen frühzeitig deutlich sind, die Serumreaktionen negativ oder schwach ausfallen, da aber, wo die Artspezifität von vornherein oder in allmählichem Uebergang das Bild beherrscht, die Serumreaktion in den Vordergrund tritt, 3) auch in der vorliegenden Versuchsserie mit der Artspezifität die Serumreaktion besonders stark wird. Mit der Annahme, daß das Serum, weil unverdünnt benutzt, stärker antigen wirken könne, als die Kochsalzorganextrakte, können unsere Ergebnisse nicht gut erklärt werden; denn

dann müßte das Serum, wenn überhaupt Reaktionen auftreten, immer die stärksten bewirken, was nicht der Fall ist.

Vielleicht ist das Phänomen so zu erklären, daß das Organprotein, schematisch gesprochen, aus zwei Anteilen besteht 1) einem organspezifischen, 2) einem komplexen; der letztere würde die verschiedensten antigenen Bestandteile verschiedener Organe etc. des Organismus enthalten. Diese wären in ihm in so geringer Menge vorhanden, daß sie nicht nach den gleichen Intervallen, wie die organspezifischen, eine Ueberempfindlichkeitsreaktion ergeben können. Ist das Intervall aber groß genug, d. h. hat der auf seinen Sensibilisierungszustand zu prüfende Organismus Zeit gehabt, auch auf die kleinen Antigenanteile des komplexen genügend Antikörper zu bilden, dann — so könnte man annehmen — würde von einer Nachinjektion anderer artgleicher Organproteine eine allmählich ansteigende Reaktion zu erwarten sein, während die organspezifische infolge Abbaus des Antigens durch bereits längere Zeit wirksame Antikörper schon zurücktreten könnte; warum die Reaktion auf Serum verhältnismäßig zeitig und stark auftritt, das könnte für die hier besprochene Versuchsreihe dadurch erklärt werden, daß zur Sensibilisierung nicht blutfrei gewaschene Organe in großen Quantitäten verwendet wurden. Wie weit auch abgesehen davon der Gehalt des Serums an den hypothetischen organspezifischen und komplexen Anteilen im Vergleich zum Gehalt der Organextrakte an ihnen Differenzen in dem erwähnten Sinne bedingen kann, muß bei der Unmöglichkeit, Serum und Extrakte quantitativ miteinander zu vergleichen, dahingestellt bleiben.

Wir haben ferner untersucht, ob hochgradig auf die Proteine Reagierende bei externer Applikation von Kaninchenhaaren eine Ueberempfindlichkeitsreaktion erkennen lassen; 10 solche Versuche verliefen vollkommen negativ.

Es ist uns also gelungen, den von Biberstein festgestellten merkwürdigen Ablauf der Intrakutanreaktionen an einem Individuum bei Reinjektion von Organproteinen und Serum, der in der Verwandlung der anfangs organspezifischen Reaktion in eine artspezifische unter starkem Hervortreten der Serumreaktion besteht, dadurch in verschiedene Phasen zu zerlegen, daß wir die Reinjektion bei Patienten vornahmen, deren erste sensibilisierende Injektion verschieden lange zurücklag, und damit seine Gesetzmäßigkeit zu erweisen.

Zwar hat man in Verfolg der Abderhaldenschen Ideen festgestellt, daß bei besonders massiger Einwirkung von Antigen, sei es künstlich eingeführtem oder bei gewissen Krankheitszuständen natürlich zur Wirkung kommendem „eine ganze Skala von Abwehrfermenten" dem Eindringling entgegengeschleudert wird, oder daß unter gewissen Versuchsbedingungen organspezifische nachweisbar wären; aber einwandfreie Parallelen zu unseren Versuchen konnten wir nicht finden. Das war auch kaum zu erwarten, da ja die Frage der allgemeinen Nachweisbarkeit organspezifischer Proteine abgesehen von einzelnen Ausnahmen (Linse, Sperma, Horngebilde) umstritten ist. Auf die Literatur sowie insbesondere auf die Herstellung der Antigene und die Bedeutung des Pohlschen Organplasmas wird Biberstein in seiner ausführlichen Mitteilung über die Versuche mit Meerschweinchen-Organ-Proteinen eingehen.

Literatur.

1) Besredka, Bull. de l'Inst. Pasteur. Bd. 20. Nr. 12 u. 13. — 2) Biberstein, Klin. Woch. 1924. Nr. 4. — 3) Derselbe und W. Jadassohn, zit.

nach 4. — 4) Derselbe und Oschinsky, Arch. f. Dermat. und Syph. Bd. 142. — Dieselben, Unveröffentlichte Arbeit, erscheint Klin. Woch. — 6) Pohl im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden (Abderhalden). Bd. 5. S. 659.

Aussprache.

L. Adelsberger (Berlin): Bei der Bewertung von Intrakutanproben muß, worauf schon Bessau hingewiesen hat, berücksichtigt werden, daß es sich nicht nur um eine Prüfung der Empfindlichkeit handelt, sondern daß diese auch ausgelöst werden kann. Es besteht deshalb die Möglichkeit, daß vorausgegangene Intrakutanproben den Ausfall der späteren beeinflussen. Zumindest können sie eine lokale Sensibilisierung der Haut bewirken auch ohne allgemeine Sensibilisierung. Deshalb dürfen bei der Wiederholung von Intrakutanproben nicht dieselben Hautpartien geprüft werden, wenn nicht eine lokale Ueberempfindlichkeit eine allgemeine des Organismus vortäuschen soll.

Schiff (Berlin) hat in Versuchen mit Adelsberger mit Hilfe der Intrakutanreaktion beim Menschen gruppenspezifische Eiweißdifferenzierungen vornehmen können. Einzelne Menschen, deren Serum den homologen Isoantikörper enthielt, reagierten ausgesprochen gruppenspezifisch gegen intrakutan einverleibte Blutkörperchen, z. B. Menschen der Gruppe 1 (Oab) mit Blutkörperchen a. Gegen Serum A war in manchen Fällen die Reaktion ebenso stark, ein Hinweis, daß es sich nicht um eine einfache intravasale Hämagglutination handeln dürfte. Hiergegen spricht auch unsere Beobachtung, daß gruppenspezifische Reaktionen durchaus nicht bei allen Versuchspersonen auftraten, deren Serum gruppenspezifische Isoantikörper enthielt.

Lubinski (Schlußwort): Auf den von meiner Vorrednerin gemachten Einwand möchte ich nur erwidern, daß die Versuche nur einmal an jeder Person vorgenommen worden sind, so daß also eine Sensibilisierung durch die intrakutane Injektion der Organextrakte nicht in Frage kommt.

---

24. Vortrag. A. Seitz (Leipzig):

Endokrine Drüsen und Abwehr.

I. Mitteilung.

Der Einfluß der Hormone auf den Ablauf der normalen vitalen Vorgänge ist heute in zahlreichen Untersuchungen festgestellt; es sei nur erinnert an die handgreiflichen Zusammenhänge, welche bestehen zwischen den Störungen des Wachstums und denjenigen der Drüsen mit innerer Sekretion. Die Erkennung der häufigen Abhängigkeit der Rachitis beispielsweise von Anomalien oder Fehlen eines Teiles des endokrinen Drüsenapparates ist ferner geeignet, neues Licht zu werfen auf die Entstehung von körperlichen Rassemerkmalen. Zu verwundern ist, daß trotz dieser Bedeutung des endokrinen Stoffwechsels der Frage noch kaum nähergetreten wurde nach den Zusammenhängen zwischen endokrinen Drüsen und den Immunitätsvorgängen. Nur gelegentlich ist der Konnex der endokrinen Drüsen mit Infektionskrankheiten von dem Gesichtspunkte aus betrachtet worden, welche Schädigungen ersteren erwachsen durch eine interkurrente oder experimentell gewollte Infektionskrankheit, z. B. über die Veränderung der Hypo-

physis bei experimenteller Diphtherie[1]), oder über die Schädigungen der Nebennieren bei Wundinfektionskrankheiten[2]). Erklärlich wird dies durch die Schwierigkeiten, die uns erwachsen, wenn wir nach geeigneten Versuchstieren Ausschau halten. Die wenigsten kleinen Laboratoriumstiere halten die Entfernung eines Drüsensystems mit innerer Sekretion aus, wenn wir von der Exstirpation der Schilddrüse oder der Ovarien bei Kaninchen absehen. Aber auch hier werden nur größere Versuchsreihen einigen Belang haben können, die sich bei diesem Versuchstier schwer durchführen lassen. Als Tier der Wahl erscheint hier in vieler Beziehung die weiße oder bunte Ratte und ihre Nebennieren als dankbares Objekt für unsere Zwecke. Bei der Ratte sind, wie bei den höheren Wirbeltieren überhaupt, die beiden Organsysteme, das Interrenal- und Adrenalsystem, nicht mehr räumlich getrennt, sondern zu je einem Organ der Nebenniere vereint. Das Interrenalsystem entspricht der Nebennierenrinde und setzt sich aus Zellen mit lipoiden Einschlüssen zusammen; das Adrenalsystem finden wir im Nebennierenmark wieder, dessen Zellen deutlich chromaffin sind. Nachdem Harley über die erste doppelseitige Entfernung der Nebennieren bei Ratten berichtet hatte, stellte sich heraus, daß gerade bei diesem Tier in vielen Fällen in der Nachbarschaft des Hodens akzessorische Nebennieren, jedoch ohne Marksubstanz, vorhanden sind (z. B. längs des sympathischen Nervensystems die Carotisdrüse und das Zuckerkandlsche Organ). War man bis dahin geneigt, den Tod nebennierenloser Tiere auf das Fehlen des Produktes des Nebennierenmarkes, des Adrenalins, zurückzuführen, muß man jetzt annehmen, daß die Tiere zum Ueberleben gar keine Marksubstanz brauchen, da sie außer dem Mark stets noch genügend chromaffines Gewebe besitzen, als freie Anteile des Adrenalsystems. Für das Ueberleben der Tiere ist offenbar das Interrenalgewebe genau so notwendig. Fraglos ist die Lebenswichtigkeit der Nebennieren, denn nach beiderseitiger Entfernung gehen fast alle Tiere nach kurzer Zeit ein, während die Exstirpation einer Nebenniere ohne jegliche Krankheitssymptome anstandslos vertragen wird durch die kompensatorische Hypertrophie der stehengebliebenen Nebenniere. Von unseren Ratten mit einseitiger Entfernung der Nebenniere leben drei nunmehr über 3 Monate und haben in der Zwischenzeit manchmal nur einige Tage nach der Operation gesunde Junge geworfen. Es ist klar, daß nur die Entfernung beider Nebennieren Schlüsse zuläßt. Exakte Exstirpationsversuche von Strehl und Weiß[3]) geben an, daß ihre Ratten 15—19 Std. überlebten, allerdings hatten sie nur die kleine Zahl von 4 Tieren. Man muß von vornherein mit einem größeren Tiermaterial arbeiten, da die Verluste ziemlich hoch sind. Von 48 Ratten, die wir operierten, waren 9 einseitig operiert; hier hatten wir einen Verlust von 44 Proz., 4 gingen vorzeitig ein, eine ging nach 23 Tagen ein in der Narkose zur zweiten Operation (s. Tabelle), 39 wurden zweiseitig operiert, davon gingen 26 vorzeitig ein. In toto ein Verlust von 66,6 Proz. Hierunter sind 12 Tiere, welche nur bis zu 18 Std. überlebten, also ein Verlust von 30,7 Proz., nur eine starb in der Narkose. Nach der Entfernung hatten sich die Tiere tadellos erholt, fraßen und

1) Abramow, S., Virch. Arch. Bd. 214. 1913. S. 408.
2) Dietrich, A., Centralbl. f. allg. Pathol. 29. 1918.
3) Pflüg. Arch. 86. 1901.

Tabelle 1.

Es überlebten Ratten

die einseitige Operation			die doppelseitige Operation								
Nr.	männl. oder weibl.	überleben	Nr.	männl. oder weibl.	Intervall zwischen beiden Operat.	überleben	Nr.	männl. oder weibl.	Intervall zwischen beiden Operat.	überleben
1b	w.	6 Stunden	1a	m.	14 Tage	5 Tage	26	w.	5 Tg. (wird entblutet)	3 Tage
6	m.	über $3^1/_2$ Mon., bis	1c	w.	gleichz.	† während der Operation	29	m.	gleichz.	6 Stunden
8	m.	5 Stunden	2	m.	„	8 Stunden	30	m.	8 Tage	5 Tage (wird entblutet)
9	w.	über $3^1/_2$ Mon., bis	3	m.	12 Tage	8 Tage				
			4	m.	11 Tage	5 Tage	31	w.	7 Tage	4 Tage
18	w.	24 Stunden	5	m.	14 Tage	4 Tage (wird entblutet)	32	m.	4 Tage	7 Tage (wird entblutet)
21	m.	† in Narkose nach 23 Tagen	7	m.	gleichz.	3 Stunden	33	m.	3 Tage	3 Tage (wird entblutet)
27	m.	getötet nach 13 Tagen	10	m.	„	6 Tage				
			11	m.	„	4 Tage	34	w.	5 Tage	3 Tage (wird entblutet)
28	w.	über $3^1/_2$ Mon., bis	12	m.	„	10 Tage (wird entblutet)	35	m.	gleichz.	6 Std. (+ Hodenexstirpat.)
41	m.	2 Tg. (+ Hodenexstirpation)	13	m.	„	3 Tage (wird entblutet)	36	w.	gleichz.	5 Tage
			14	w.	„	8 Tage	37	m.	„	2 Tage
			15	w.	„	3 Tage	38	m.		18 Stunden
			16	w.	„	18 Stunden	39	m.	„	3 Tage (wird entblutet)
			17	w.	„	18 Stunden				
			19	w.	6 Tage	7 Tage	40	w.	„	4 Tage (wird entblutet)
			20	m.	28 Tage	5 Tage				
			22	w.	7 Tage	31 Tage (wird entblutet)	42	m.	3 Tage	24 Std. (+ Hodenexstirpat.)
			23	m.	10 Tage	2 Tage	43	w.	24 Std.	18 Stunden
			24	w.	12 Tage	3 Tage (wird entblutet)	44	w.	gleichz.	8 „
							45	w.	„	8 „
			25	m.	5 Tage	18 Stunden	46	m.	„	8 „

waren munter. Immerhin geht aus der Tabelle hervor, daß auch bei doppelseitiger Entfernung in einer Sitzung die meisten Ratten 3 Tage überlebten, manchmal auch 5 Tage; ein Intervall zwischen beiden Operationen (also zweizeitig) scheint die Lebensdauer etwas zu erhöhen, die längste Ueberlebungsdauer mit 36 Tagen hatten wir bei Beobachtung eines Intervalls von 7 Tagen, das Tier warf Junge; andererseits überlebte eine Ratte 10 Tage bei Entfernung beider Nebennieren in einer Sitzung.

Die Methodik der Operation: Man kann die Nebennieren beide in einer Sitzung herausnehmen, was den Vorteil geringer Schädigung des Tieres durch die Narkose hat. Bei genügender Uebung gelingt dies fast anstandslos. Nach dem Aufspannen, Epilierung mit Baryumsulfid und Desinfektion des Oporationsfeldes wird zunächst vom Abdomen aus durch seitlichen Schnitt dieses eröffnet. Am besten wird erst links operiert, die linke Nebenniere liegt etwas abseits von dem Nierenpol etwas höher als die rechte, und operiert sich leichter. Die rechte Nebenniere liegt fest dem oberen Nierenpol auf, auch stört hier die Nachbarschaft der Leber. Bei dem großen Blutreichtum der Nebennieren empfiehlt sich vor der Exstirpation die Unterbindung, jedoch ist bei richtiger Technik die Blutung kaum nennenswert. Anfängliche Verluste hatten wir durch ein vorhergehendes Schwimmbad der Tiere in sehr verdünntem Karbolwasser, um das Tier zu erschöpfen und die Hautoberfläche zu desinfizieren. Diese Tiere wurden von stundenlangen schüttelfrostartigen Zuckungen befallen, so daß hiervon dringend abgeraten werden muß. Bei richtiger Aethernarkose erholen sich die Ratten etwa 5—10 Min. nach der Operation und machen torkelige Gehversuche.

Der Tod der Tiere ist weder auf die Schwere der Operation (Blutverlust, Narkose), noch auf nachfolgende Infektion (Peritonitis) zurückzuführen, denn die Sektion der verendeten Tiere ergab in allen Fällen keinen Anhaltspunkt für irgendeine dieser Todesursachen. Die Tiere gehen, sich selbst überlassen, unter Abmagerung und Muskelschwäche an langsamem Marasmus zugrunde; auffallend ist das Blaßwerden des Augenhintergrundes sowie der ganz plötzliche Tod. Melanodermie wurde bis jetzt nicht beobachtet. Von Wichtigkeit mußte es sein, einen Anhaltspunkt zu besitzen für das Sinken des Blutdruckes, den wir als nächsten Funktionsausfall der Nebennieren erwarten müssen. Blutdruckbestimmungen bei Ratten existieren nicht. Anfängliche Versuche, ihn am Schwanz oder distaler Schenkelbeuge zu messen mit dazu ersonnenen Manschetten, schlugen vollkommen fehl. Schließlich erwies sich eine unblutige Blutdruckmessung am Thorax vermittels einer dem Riva-Rocci-Apparat nachgebildeten Manschette als unbrauchbar. Vermittels eines Recklinghausenschen Tonometers lassen sich oszillatorische Blutdruckmessungen ausführen[1]); sie ergaben einen Normalblutdruck für Ratten von durchschnittlich 175 cm Wasser, 160—175 ergaben die meisten Messungen. Unsere doppelseitig operierten Ratten zeigten einen Blutdruck von durchschnittlich 130 cm Wasser, gelegentlich sank er auch auf 125 cm Wasser. Haben wir so an der Blutdruckmessung einen Anhaltspunkt für die Schwere des Eingriffes, so haben wir auf der anderen Seite ein Kriterium für die restlose Beseitigung der Nebennieren einmal in der Inspektion bei der Sektion, sodann können wir für die Feststellung etwaiger akzessorischer Nebennieren oder zerstreuten chromaffinen Gewebes den Versuch machen, durch Auflegen eines chromgetränkten Tupfers auf die Regionen längs des Sympathicus an der Wirbelsäule die Braunfärbung etwaigen chromaffinen Gewebes zu erzielen. Es sei hier gleich betont, daß wir nur in äußerst seltenen Fällen solche sich braunfärbende Stellen durch die Chromprobe nachweisen konnten; eine Hypertrophie des akzessorischen chromaffinen Gewebes, wie sie oft nach der Entfernung der Nebennieren einsetzt, geht jedenfalls doch nicht so rasch vor sich, daß sie einen Ersatz abgeben könnte für die entfernten Nebennieren in den Tagen, die zwischen Operation und Versuch verstreichen.

Wenn eine tiefgreifende Schädigung durch die Beseitigung eines Teiles der endokrinen Drüsen herbeigeführt wird, war zu erwarten, daß sich dies einmal in der Konstitution und dem Verhalten der Leukozyten, sodann wohl auch in der Bakterizidie äußern würde.

Wie gestaltet sich nun bei den Ratten ohne Nebennieren die Phagozytose?

Kontrollversuche.

Normale weiße Ratten von 160 g bis 200 g Gewicht erhalten am Vortage 10 ccm sterile Bouillon ip. Nach ca. 12 Std. Entblutung aus Carotis zur Serumgewinnung. Die Bauchhöhle wird mit Ringerlösung ausgespült, die Leukozyten einmal mit Ringerlösung und einmal mit physiol. NaCl-Lösung gewaschen, 6 Tropfen Leukozyten-Aufschwemmung, 1 Tropfen aktives Rattenserum, 1 Tropfen 24stünd. Streptokokkenbouillon bei 37°, $^1/_2$stündl. Aufschütteln der Gläschen. Be-

1) Herrn Privatdozent Goetze von der Tierärztl. Hochschule sei auch an dieser Stelle der beste Dank ausgesprochen für seine Ratschläge.

zeichnen wir in Prozent die Anzahl der Leukozyten, welche gefressen haben, so erhalten wir bei den Normalratten folgendes Bild (gekürzt):

Tabelle II.

Nach 2 Stunden			Nach 4 Stunden		
Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	Anzahl der gezählten Leukozyten	davon haben gefressen	es haben gefressen in %
76	38	50	80	27	33,7
100	68	68	100	65	65
200	72	36	200	70	35
200	80	40	200	81	40,5
200	52	26	200	54	27

Im folgenden geben wir nunmehr einen Ausschnitt aus unseren Versuchen, wobei wir jeder Versuchsnummer, soweit möglich, das Blutbild hinzufügen. Die Alteration schon des Blutbildes ist daraus ohne weiteres ersichtlich. Die Störungen in der Blutzusammensetzung werden in Anbetracht des ohne jegliche nennenswerte Blutungen verlaufenden Eingriffes und der Untersuchung des Blutes meist 8 Tage nach der Operation dem Fehlen dieses Teiles des endokrinen Apparates zur Last gelegt werden müssen.

	Nach 2 Stunden			Nach 4 Stunden			Nach 5 Stunden			
	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	
te Nr. 5, männl., oper. am 28. 2., Gewicht am 29. 2.: 160 g, am 10. 3.: 160 g, am 21. 3: 180 g, am 22. 3: 180 g. Butbefund nach der Oper. Rote: 8056000, Zunahme um 1% gegen Normal[1]), Weiße: 6000, Blutstatus nach der Op.: Neutrophile 56%, große Lymphoz. 29%, kleine Lymphoz. 6%, Eosinophile 9%.	88	32	36	90	36	40	100	12	12	Der phagozytische Index mehrerer Seren normaler Ratten ergab für unseren Strept.-Stamm 1,6 im Durchschnitt. Phagozytisch. Index Ratte Nr. 5 = 0,8. Opsonischer Index = 0,5.
tte Nr. 12, Gew. 180 g, männl., oper. am 18. 3., Gew. am 22. 3.: 170 g. Blutbef. nach der Oper.: R. 6592000, Zunahme um 6% gegen Normal.	260	24	9,2	124	39	31	—	—	—	Phag. Index Ratte Nr. 12 = 0,6. Ops. Index = 0,4.

1) Der normale Blutstatus der weißen Ratte wurde ermittelt aus dem Durchschnitt von 4 Tieren und ergab 6146000 Rote und 13400 Weiße.

Normale Ratten ergaben folgende Blutzusammensetzung, bei 4 Tieren ermittelt:

Neutroph. Leukoz.	28%	13%	34%	55%
Große Lymphoz.	43 „	50 „	36 „	30 „
Kleine Lymph.	27 „	20 „	18 „	4 „
Eosinoph.	2 „	1 „	3 „	3 „
Monozyten	10 „		6 „	4 „
Plasmazellen	6 „			

	Nach 2 Stunden			Nach 4 Stunden			Nach 5 Stunden			
	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	Anzahl der gezählten Leukoz.	davon haben gefressen	es haben gefressen in %	
Ratte Nr. 18, Gew. 170 g., weibl., oper. am 2. 4., Gew. am 3. 4.: 180 g.	200	59	27	100	30	30	225	27	12	Phag. Ind. Ratte Nr. 1 = 0,8. Ops. Ind. = 0,
Ratte Nr. 20, männl., Gew. 155 g, oper. am 10. 4. und 8. 5.	200	20	10	200	15	7,5	200	30	15	Phag. Ind. Ratte Nr. 2 = 0,55. Ops. Ind. = 0,2
Ratte Nr. 24, weibl., Gew. 100 g, oper. am 17. 4. und 29. 4. Blutdruck ante Op. 168, post oper. 128. Frißt und wirft Junge.	200	22	11	150	14	9,3	150	15	10	Phag. Ind. Ratte Nr. 2 = 0,6. Ops. Ind. = 0,
Ratte Nr. 27, männl., Gew. 200 g, oper. am 9. 5. Blutbef. post oper.: R.: 9176000, W.: 160000. Blutstatus post oper.: Neutrophile 27 %, gr. Lymphoz. 39 %, kl. Lymphoz. 28 %, Eosinoph. 5 %, Plasmaz. 2 %.	200	26	13	200	20	10	200	11	5,5	Phag. Ind. Ratte Nr. 2 = 0,7. Ops. Ind. = 0,4
Ratte Nr. 22, weibl., Gew. 150 g, oper. am 15. 4. und 27. 4. Vor der Entblutung tadellos erholt!	200	14	7	200	15	7,5	200	15	7,5	Phag Ind. Ratte Nr. 2 = 0,55. Ops. Ind. = 0,2
Ratte Nr. 26, weibl., Gew. 170 g, oper. am 30. 4. und 5. 5. Blutbefund post operat.: R. 8968000, W. 308000, Neutr. Leukoz: 48 %, gr. Lymphoz. 42 %, kl. Lymphoz. 8 %, Eosinoph. 2 %.	200	19	9,5	200	17	8,5	100	8	8	Phag. Ind. Ratte Nr. 2 = 0,65. Ops. Ind. = 0,43
Ratte Nr. 30, männl., Gew. 160 g, oper. am 14. 5. und 22. 5. Hodenexstirp., Blutdr. post oper. 155 cm.	200	27	13,5	200	25	12,5	200	25	12,5	
Ratte Nr. 32, männl., Gew. 100 g., oper. am 15. 5. und 22. 5. Hodenexstirp., Blutdruck vorher 172 cm, nachher 140 cm.	200	15	7,5	200	13	16,5	—	—	—	
Ratte Nr. 34, weibl., Gew. 100 g., oper. am 19. 5. und 22. 5., Blutdruck vorher 170 cm, nachher 130 cm.	200	31	15,5	200	26	13	200	25	12,5	
Ratte Nr. 40, weibl., Gew. 130 g, oper. am 31. 5., Blutdruck vorher 158 cm, nachher 126 cm.	200	18	9	200	16	8	200	16	8	

Neben der normalem Rattenserum bekanntlich innewohnenden kräftigen Anthrakozidie besitzt das Rattenserum auch bakterizide Eigenschaften gegenüber Typhus- und Dysenteriebazillen, wobei die keimtötende Kraft gegenüber dieser letzteren Bakterienart jedoch deutlich geringer zu sein scheint. Folgendes möge dies deutlich machen, verglichen mit dem Serum einiger operierten Tiere.

(Vgl. die Tabelle auf S. *233.)

Neben einer deutlichen Herabsetzung der phagozytischen Kraft der Leukozyten geht bei den ihrer Nebennieren be-

Normale Bakterizidie des Rattenserums.

	Serum 1			Serum 2			Serum 3			Serum 4		
	sofort	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	sofort	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	sofort	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden	sofort	nach 4 Stunden	nach 6 Stunden
Milzbrand	1500 Keime	18	20	80	4	1	160	40	7	45	3	2
Typhus	490 Keime	10	8	500	12	5	1000	15	10	2500	100	55
Dysenterie	2000 Keime	1600	875	600	290	90	550	480	410	600	460	85

Bakterizidie des Serums epinephrektomierter Ratten.

	Ratte Nr. 5			Ratte Nr. 12			Ratte Nr. 13			Ratte Nr. 14		
Milzbrand	614	410	400	1500	800	710	510	100	80	300	110	89
Typhus	1000	200	310	910	205	200	900	310	305	1000	300	274
Dysenterie	1000	850	860	1000	710	680	1000	710	655	1700	1200	1150

raubten Ratten eine Schwächung der keimtötenden Kräfte des Serums[1]) einher. Leider ist es manchmal recht schwer, von den Ratten genügend Serum zu gewinnen, besonders in dem Zustande der Herzschwäche bei den operierten Tieren. Nach subkutaner Injektion von Nebennierenextrakt[2]) hob sich das Befinden mancher Tiere sichtlich, eine Differenz in den Befunden haben wir jedoch bis jetzt nicht feststellen können.

Ueber das Verhalten der epinephrektomierten Tiere der Infektion gegenüber läßt sich noch kein definitives Urteil gewinnen; mit Milzbrand ist es, bei der bekannten äußerst verschiedenen Resistenz weißer Ratten, schwer, zu arbeiten. Das Verhalten der Kapselbildung im nebennierenlosen Tiere soll besonders betrachtet werden.

---

25. Vortrag. M. Gutstein (Berlin):

Ueber die färberische Darstellung des Bakterienektoplasmas.

Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Gramschen Färbung.

Gelegentlich einer eingehenden Untersuchung über die Darstellung der Kapsel des Milzbrandbazillus sind wir in den Besitz einer Methode gelangt, die gestattet, das Ektoplasma der Bakterien isoliert, oder in einer Kontrastfarbe zum Endoplasma zu färben. Die Färbbarkeit der Bazillenmembran beruht darauf, daß nach Vorbehandlung des fixierten Bakterienausstriches mit einer Tanninlösung und nachfolgender Einwirkung des basischen Farbstoffes das Ektoplasma isoliert gefärbt wird. Zur Färbung der Bakterienmembranen eignen sich fast alle basischen Farbstoffe, insbesondere die blauen, Methylenblau, Neumethylenblau, Thionin, Azur, die grünen, Malachitgrün, Brillantgrün, Jod-

1) Zu den Versuchen werden nur solche Tiere verwandt, welche sich bis zur Entblutung tadellos erholt haben.

2) Nebennierenorganextraktbereitung. Die Nebennieren werden verrieben und zerquetscht im Mörser. Mit etwa der 10fachen Gewichtsmenge 0,25proz. Essigsäurelösung 1 Min. aufkochen lassen. Abfiltrieren, mit NaOH neutralisieren bis Lakmusneutralpunkt. Hinzufügen von physiol. NaCl-Lösung im Verhältnis 1 : 5.

grün, die roten, Safranin, Pyronin, Neutralrot, und die violetten, Gentianaviolett, Methylviolettfarbstoffe. Dagegen färben die saueren Farbstoffe im allgemeinen das Ektoplasma auch nach Tanninbehandlung nicht an.

Die Darstellung des Bakterienektoplasma nach dieser Methode scheint darauf zu beruhen, daß die Bakterienmembran durch die Einwirkung der Tanninlösung anscheinend derartig verändert wird, daß der darauf folgende basische Farbstoff offenbar nicht in den Leib des Bakteriums eindringen kann. Ob dabei die Entstehung einer Tripelverbindung Ektoplasma — Tannin — basischer Farbstoff eine Rolle spielt, muß vorläufig unentschieden bleiben. So viel ist aber sicher, daß das saure Tannin mit dem basischen Farbstoff eine wasserunlösliche Verbindung gibt. Für die eintretende Veränderung des Ektoplasmas durch die Tanninbehandlung scheint folgender Versuch zu sprechen:

Behandelt man ein vier- bis sechsfach gefaltetes Filtrierpapierstück mit einer verdünnten Tanninlösung und gießt darauf eine einprozentige Malachitgrünlösung, so dringt der Farbstoff nur höchstens bis zur zweiten oder dritten Schicht durch. Uebergießt man dagegen ein ebensolches Stück Filtrierpapier ohne Tanninvorbehandlung mit derselben Malachitgrünlösung, so dringt der Farbstoff bis auf die letzte Schicht durch. Dieses Filtrierpapier ist bis auf die letzte Schicht dunkelblaugrün gefärbt. Im Gegensatz hierzu zeigt das mit Tannin behandelte Filtrierpapier nach der Malachitgrünbehandlung eine hellere giftgrüne Farbe. Dieselbe hellgrüne Verbindung erhält man, wenn man in vitro eine Tannin- mit einer Malachitgrünlösung zusammenbringt. Es entsteht dabei eine wasserunlösliche Tannin-Malachitgrünverbindung. (Malachitgrüntannat.)

Da eine sehr große Zahl von basischen Farbstoffen zur Darstellung des Bakterienektoplasmas in den verschiedensten Farben zur Verfügung stehen, so gestattet diese Methode, die Mikroben in vielen kontrastreichen Farben darzustellen, und zwar dadurch, daß man den Bakterienleib mit einem basischen Farbstoff vorfärbt und nach nunmehriger Tanninbehandlung das Ektoplasma mit einem zweiten basischen Farbstoff in einer Kontrastfarbe darstellt. Im einzelnen erhält man bei den verschiedenen Mikroben folgende Bilder:

I. Diphtheriebazillus.

Tannin-Safranin liefert eine isolierte Färbung des Ektoplasmas in roter Farbe, während der Bazillenleib ungefärbt ist. Die Bazillen erscheinen viel länger als bei Färbung beispielsweise mit Methylenblau und lassen die Teilungslinien in roter Farbe erscheinen, an denen zwei oder mehrere Bazillen noch zusammenhängen.

Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin liefert einen blauen Bazillenleib und ein rotes schmales Ektoplasma.

Karbolfuchsin-Tannin-Methylenblau zeigt einen roten Leib und blaues Ektoplasma.

II. Strepto- und Staphylokokken.

Tannin-Malachitgrün färbt das Ektoplasma hellgrün.

Tannin-Azur: blaues Ektoplasma, der Leib ist ungefärbt.

Karbol-Methylenblau-Tannin-Fuchsin: blauer Leib, rotes Ektoplasma.

Karbolfuchsin-Tannin-Methylenblau: roter Leib, blaues Ektoplasma.

III. Pneumokokken.

Tannin-Methylviolett färbt das Ektoplasma in prachtvoller violetter Farbe, Leib ungefärbt.

Karbolbrillantgrün-Tannin-Fuchsin: grünes Endoplasma und rotes Ektoplasma.

Behandelt man die Pneumokokkenausstriche mit einer Karbolfuchsinlösung und differenziert mit einer 5prozentigen Essigsäurelösung bis zur vollständigen Entfärbung, so wird der Leib (Nukleoproteid) farblos, und es bleibt ein rotes Granulum zurück.

Durch Kombination dieser Methode mit einer Ektoplasmafärbung (Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau) erhält man ein rotes Granulum, das freie Nukleinsäure enthält, einen ungefärbten Pneumokokkenleib und ein blaues Ektoplasma. Manche Kokken, die in Teilung begriffen sind, zeigen ein Doppelgranulum.

In derselben Weise liefert:

Karbolmethylenblau-Essigsäure-Tannin-Safranin ein blaues Granulum, bzw. Doppelgranulum, einen hellen Leib und ein rotes Ektoplasma[1]).

Unter Verwendung der Schumacherschen Nukleinsäurereaktion (Methylenblau-Phosphin) liefert die Karbolmethylenblau-Phosphin-Tannin-Safranin-Methode ein Dreifarbenbild des Pneumococcus: grünes Granulum bzw. Doppelgranulum, gelblichen Leib, rotes Ektoplasma.

IV. Hefe.

Tannin-Safranin stellt das Ektoplasma und die Sporenmembran in roter Farbe dar.

Bei Verwendung von Karbolbrillantgrün-Tannin-Safranin erhält man: giftgrüne Sporen, blaugrünen Leib, Ektoplasma und Membran in roter Farbe.

Die Karbolmethylviolett-Essigsäure-Brillantgrün-Tannin-Safranin-Methode liefert ein Dreifarbenbild der Hefe: Sporen violett, Leib blaugrün, Membran und Ektoplasma rot.

Unter Verwendung der M + P-Methode liefert Karbolmethylviolett-Essigsäure-Methylenblau-Phosphin-Tannin-Safranin ein kontrastreiches Vierfarbenbild der Hefe: Sporen violett, Leib gelb, freie Nukleinsäure grün, Ektoplasma und Membran rot.

Durch dieselbe Methode wie das Ektoplasma läßt sich auch die viel breitere Hülle oder Kapsel der Bakterien färberisch darstellen, wie ich an zwei Beispielen zeigen will.

V. Streptococcus mucosus.

Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin: blauer Doppelcoccus, rote breite Kapsel.

Karbolfuchsin-Tannin-Methylenblau: roter Doppelcoccus, blaue Kapsel.

---

1) Nach noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von Schumacher und mir ist das Volutin von A. Meyer identisch mit freier Nukleinsäure und läßt sich am besten mit Karbolmethylenblau-Essigsäure darstellen, wobei die Nukleoproteide völlig entfärbt werden.

VI. Milzbrandbazillus. (Milzausstriche.)

Karbolmethylenblau-Tannin-Fuchsin: blauer Leib, rote Kapsel.

Karbolfuchsin-Tannin-Methylenblau: roter Leib, blaue Kapsel.

Theorie der Gramschen Färbung.

Die Gramsche Färbung scheint darauf zu beruhen, daß das Ektoplasma der grampositiven Bakterien im Gegensatz zu dem der gramnegativen mit Gentianaviolett-Jod eine alkoholunlösliche Verbindung liefert. Durch die nachfolgenden Versuche, die ich an der stark grampositiven Hefe vorgenommen habe, läßt sich beweisen, daß diese Lebewesen nur so lange eine Färbung nach Gram geben, als bei ihnen das Ektoplasma intakt ist und sich nach der Tanninmethode darstellen läßt. Sobald aber durch Einwirkung starker chemischer Reagentien die Hefe ihre Färbbarkeit nach Gram verloren hat, läßt sich das Ektoplasma nicht mehr darstellen. Die Tannin-Methode liefert dann eine Färbung der ganzen Zelle oder sie färbt sie überhaupt nur schlecht.

1) Behandelt man Hefeausstriche mit Schweizers Reagenz und färbt darauf nach der Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau-Methode, so erhält man einen roten Nukleolus, und ein blaues Ektoplasma. Färbt man dieselben Ausstriche nach Gram, so sind alle Zellen violett gefärbt.

2) Behandelt man Hefeausstriche 24 Stunden mit kalter konzentrierter Salzsäure, so zeigen die Zellen, nach Gram gefärbt, eine rote Farbe. Färbt man dieselben Ausstriche nach der Tannin-Methylenblau-Methode, so läßt sich ein Ektoplasma nicht mehr nachweisen: die Zellen sind fleckigblau gefärbt.

3) Streicht man normale Hefe, Hefe die mehrere Stunden mit zweiprozentiger Salzsäure gekocht wurde und Hefe, die mehrere Stunden mit 5prozentiger Salzsäure gekocht wurde, auf einem Objektträger aus, fixiert, extrahiert mit Alkohol-Benzin (24 Std.) und färbt darauf nach Gram, so erhält man folgende Resultate:

Die normalen Hefezellen sind stark violett gefärbt und lassen nur im Zentrum zum Teil helle ungefärbte Lücken erkennen. Diese Lücken entsprechen wohl den mit Alkohol-Benzin extrahierten Lipoidsubstanzen. Die mit 2prozentiger Salzsäure behandelten Zellen sind rot gefärbt, während die mit 5prozentiger Salzsäure behandelten Hefezellen eine schwache rote Farbe aufweisen. Färbt man dieselben Ausstriche nach der Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau-Methode, so zeigen die normalen Zellen einen roten Leib und blaues Ektoplasma, die mit 2prozentiger Salzsäure behandelten sind im ganzen blau gefärbt, während die mit 5prozentiger Salzsäure behandelten nur eine schwachblaue Farbe aufweisen.

Es läßt sich ferner zeigen, daß die gramnegativen Bakterien ein Ektoplasma besitzen, das sich von dem der grampositiven stark unterscheidet, wie die folgenden Versuche beweisen:

1) Streicht man Diphtheriebazillen und Colibakterien auf einem Objektträger aus und behandelt die fixierten Ausstriche mit Tannin-Anilingentianaviolett, so zeigt das erstere Bakterium nur ein violettes Ektoplasma, während die Colistäbchen total und stark violett gefärbt sind.

2) Färbt man dieselben Ausstriche mit Brillantgrün-Tannin-Fuchsin, so zeigt der Diphtheriebazillus einen grünen Leib und ein rotes Ektoplasma, während die gramnegativen Stäbchen vollständig rot gefärbt erscheinen.

3) Streicht man Staphylokokken und Typhusbazillen auf einen Objektträger aus, fixiert und färbt mit

a) Karbolmethylenblau-Tannin-Karbolfuchsin, so zeigen die Staphylokokken einen blauen Leib und einen roten Rand, während die gramnegativen Typhusbazillen leuchtend rot erscheinen.

b) Karbolfuchsin-Tannin-Karbolmethylenblau: Kokken zeigen roten Leib und blaues Ektoplasma, Typhusbazillen sind blau gefärbt.

4) Behandelt man die fixierten Staphylokokken-Typhusausstriche mit Tannin, färbt nach Gram und differenziert ganz kurz mit 96proz. Alkohol, so erhält man eine Umkehrung der Gramschen Färbung: die Kokken sind hell mit schmalem violetten Rand, die Stäbchen sind violett gefärbt.

5) Färbt man dieselben Ausstriche nach Tanninbehandlung nach der Gramschen Methode und

a) differenziert mit Alkohol und färbt mit Malachitgrün nach, so zeigen die Staphylokokken ein violettes Ektoplasma und einen ungefärbten Leib, während die Typhusbazillen grün gefärbt erscheinen;

b) differenziert mit Alkohol und färbt mit Karbolfuchsin nach, so zeigen die Kokken ebenfalls einen violetten Rand und ein ungefärbtes Zentrum, während die Typhusbazillen leuchtend rot erscheinen.

Diese Versuche scheinen dafür zu sprechen, daß die grampositiven Bakterien nur deswegen nicht entfärbt werden, wenn man sie nach Gram färbt, weil ihr Ektoplasma mit Gentianaviolett-Jod eine alkoholunlösliche Verbindung bildet. Im Gegensatz hierzu ist das chemisch oder physikalisch anders gebaute Ektoplasma der gramnegativen Bakterien so beschaffen, daß seine Verbindung mit Gantianaviolett-Jod in 96proz. Alkohol löslich ist. Deshalb werden die gramnegativen Bakterien bei der Gramschen Methode vollständig entfärbt und nehmen die Kontrastfarbe des Fuchsins an.

Aussprache.

J. Schumacher (Berlin): Auf die Beobachtungen des Herrn Vortragenden bezüglich des langsamen Verschwindens der Gramfärbung bei Anwendung heißer Salpetersäure zur Hydrolyse der Nukleine, die mit meinen Beobachtungen übereinstimmen, bin ich schon in meinem obigen Vortrage zur Gramfärbung eingegangen.

Ich möchte hier nur erwähnen, daß es mir mit gänzlich anderer Methodik gelungen ist, ebenfalls die äußere Zellmembran darzustellen. Bei Gelegenheit anderer Untersuchungen, die ich vor einiger Zeit in einem hygienischen Institut vorzunehmen in der Lage war, zog ich auch den chemischen Aufbau des Milzbrandbazillus und seiner Sporen in den Bereich meiner Untersuchungen. Von der Beobachtung ausgehend, daß die Hefesporen zum größten Teil freie Nukleinsäure enthalten, da sie sich bei der Methylenblau-Anilin-Phosphinmethode grün färben, vermutete ich, weil sich die Milzbrandsporen bei der gewöhnlichen Färbung mit basischen Farben ähnlich verhalten, daß auch diese Sporen sich zum Teil wohl aus freier Nukleinsäure aufbauten. Von dieser Ueberlegung ausgehend, kamen Ausstriche von Milzbrandsporen über Nacht zur Entfernung der Nukleinsäure in 25-proz. Salzsäure. Baute sich die Membran der Milzbrandsporen wirklich aus anderen chemischen Stoffen auf als der Sporeninhalt, so war die Möglichkeit vorhanden, daß sich jetzt der Sporeninhalt nicht mehr mit Methylenblau färben ließ, wohl aber die Membran. Dies ist in der Tat der Fall. Spült man ein solches 24 Std. lang mit 25proz. Salzsäure behandeltes Präparat von Milzbrandsporen mit Wasser

ab und färbt heiß mit Anilin-Methylenblau, so erkennt man mikroskopisch eine hohle Spore: Der weiß aussehende ungefärbte Sporeninhalt ist von einem blauen Rand umgeben. (Demonstration.) Färbt man ein solches Präparat nicht heiß mit Anilin-Methylenblau, sondern kalt mit wässeriger Methylenblaulösung oder besser noch mit wässeriger Fuchsinlösung, so erkennt man ein kleines, oft am Rande der Spore liegendes rundes Körperchen, über das bei anderer Gelegenheit noch berichtet werden wird, und das höchstwahrscheinlich den Kern der Spore darstellt. Lag nach dem Ausfall des Versuches mit 25proz. HCl in der Milzbrandspore wirklich freie Nukleinsäure vor, so mußte man alsdann die Spore mit der Methylenblau-Anilin-Phosphinmethode grün darstellen können, was der Fall ist. Man beobachtet dabei, daß der etwas verkleinert aussehende Sporeninhalt grün ist, umgeben von einer blaßgelben Hülle. Gleichzeitig erkennt man, da einige Sporen nur eine gelbe Farbe aufweisen, daß die chemische Zusammensetzung der einzelnen Sporen keine einheitliche ist, worauf sich wieder neue Färbemethoden gründen, die bei anderer Gelegenheit mitgeteilt werden sollen.

Da man schon lange eine Lipoidmembran der Zelle vermutete, so wurde auch gleich der chemischen Zusammensetzung der Sporenmembran nachgegangen. Lag wirklich ein Lipoid vor, so mußte die Sporenmembran nach Behandlung mit 25proz. HCl und nachfolgender heißer Färbung mit Anilin-Methylenblau nicht mehr darstellbar sein, wenn das betreffende Präparat vorher über Nacht in Aether gestanden hatte. Das ist aber trotzdem der Fall. Ein ungebundenes Lipoid kann daher für den Aufbau der Sporenmembran nicht in Frage. Der Reaktion nach schien auch hier ein Lipoidproteid vorzuliegen, was der Fall ist. Denn bei gleichlanger Behandlung der Milzbrandsporenausstriche mit 25proz. Salzsäurealkohol statt mit wässeriger 25proz. HCl gelang eine Darstellung der Sporenmembran mit heißer Anilin-Methylenblaufärbung nicht mehr, da das Lipoidproteid offenbar hydrolytisch aufgespalten und das Lipoid durch den gleichzeitig vorhandenen Alkohol mit entfernt wurde. Auch bei Anwendung dünnerer HCl-Alkoholkonzentrationen gelingt dies in relativ kurzer Zeit (24—48 Std.), während gleichhoch konzentrierte wässerige Salzsäurekonzentrationen auch bei tagelanger Einwirkung die färberische Darstellung der Membran noch gestatten. Der basische Eiweißanteil des Lipoproteids läßt sich auch nach Salzsäure-Alkoholbehandlung noch mit karbolisierten sauren Farben darstellen, beispielsweise mit Wasserblau, wobei aber der Sporeninhalt ebenfalls mitgefärbt wird. Auf die näheren Einzelheiten kann naturgemäß erst in einer ausführlichen Arbeit eingegangen werden.

Zum ersten Male sah ich die Zellmembran bei meinen Untersuchungen über die Einwirkung von Silbernitratlösungen auf lebende Hefezellen (Vortrag vor der Berl. Med. Ges., wo auch die betreffenden Bilder demonstriert wurden; siehe Med. Klin. Bd. 5. 1922. S. 159). Werden nämlich die so über Nacht mit Silbernitratlösung behandelten, durch teilweise Reduktion grau gewordenen Hefezellen in der Zentrifuge mit dest. Wasser silberfrei gewaschen und dann mit Pyrogallol-Leitungswasserlösung im hängenden Tropfen untersucht, so erkennt man neben einem braunschwarzen Zellinhalt, der in den einzelnen Zellen verschiedene Gestalt besitzt, teilweise in Form von Kugeln zugegen ist, die nur ganz schwach hellgelb gefärbte doppelt konturierte Zellmembran, Beobachtungen, die auch von Liese und Mendel bestätigt wurden. (Ztschr. f. Hyg. u. Hyg. u. Infektionskrankh. 100. 454.)

F. Breinl (Prag): Wir haben seinerzeit gezeigt, daß gewisse Staphylokokkenstämme durch künstliche Mutation (nach Bärthlein) in gramnegative Varianten überführt werden können (Centralbl. f. Bakt. 1923. S. 224). Auf Grund serologischer Untersuchungen kamen wir zu dem Schluß, daß die gramnegative Variante aus dem Ausgangsstamm durch Verlust des Ektoplasmas entstanden ist. Ich sehe mit Vergnügen, daß Herr Gutstein auf ganz anderem Wege — durch morphologische Betrachtung — zu derselben Auffassung gelangt ist: daß das Ektoplasma der Träger der Gramfestigkeit ist.

E. Jacobsthal (Hamburg): Die Bilder, die uns hier gezeigt worden sind, sind wohl identisch mit den Bildern, wie sie der Botaniker Fischer gefunden und als „Spiegelfärbung" bezeichnet hat. Er hat diese Methoden benutzt, um zu zeigen, daß die Art der Färbung nichts mit dem chemischen Bau des Farbgutes zu tun habe.

Die uns hier mitgeteilte Methode der Behandlung mit Tannin genügt an sich noch nicht, um das Vorhandensein eines Ektoplasmas zu beweisen. Es ist nur eine Frage der verschiedenen Durchlässigkeit der grampositiven und gramnegativen

Bakterien, die bewirkt, daß im einen Falle nur die Oberfläche gegerbt (gebeizt) wird, im anderen Falle aber das ganze Bakterium. Es wäre noch eine Kontrolle nötig, die uns darüber Auskunft gibt, ob das nicht mit Tanninlösung behandelte gramnegative Bakterium nicht sich schwächer färbt, als das mit Tanninlösung behandelte.

Gutstein (Schlußwort): Auf die Bemerkung des Herrn Schumacher, daß er die Sporenmembran des Milzbrandbazillus nach Entfernung des Sporeninhalts gefärbt habe, möchte ich folgendes erwidern: Natürlich habe ich auch den Anthraxerreger in den Kreis meiner Untersuchungen gezogen. Mit der Tanninmethode gelingt es mit Leichtigkeit, sowohl das Ektoplasma als auch die Sporenmembran färberisch darzustellen, und zwar färbt sich dabei sowohl die Membran der freiliegenden Sporen, als auch diejenige der fertigen, noch im Zellleib befindlichen Sporen. Bei Vorfärbung mit einem Karbolfarbstoff in der Hitze erhält man Spore und Membran in zwei Kontrastfarben. Uebrigens gelingt es, die Sporenmembran auch ohne Tannin zu färben, und zwar, wenn man z. B. mit Karbolfuchsin kalt färbt, wobei die Membran eine leuchtend rote Farbe annimmt, während die Spore selbst ungefärbt ist.

Der Einwand des Herrn Jacobsthal, daß es sich bei der Tanninmethode vielleicht um ein Kunstprodukt, und zwar um Niederschläge des basischen Farbstoffes mit dem sauren Tannin handeln könnte, erscheint auf den ersten Blick nicht unberechtigt. Ich habe mir selbst diesen Einwurf gemacht, bin aber im Laufe der Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangt, daß das Bakterienektoplasma an jedem Bakterium vorhanden ist, und kein Kunstprodukt darstellt. Für das Vorhandensein des Ektoplasmas, das übrigens aus theoretischen Gründen angenommen werden muß — es grenzt die Mikroben gegen die Umgebung ab und schützt sie gegen die äußeren Einflüsse des Mediums (Temperatur, Licht, hypertonische Lösungen usw.) — sprechen folgende Gründe:

1) liefert die Tanninmethode stets und regelmäßig nur eine äußere Hülle der Bakterien, während sonstige Niederschläge völlig fehlen (ich brauche wohl nicht besonders hervorzuheben, daß die Ausstriche nach der Tanninbehandlung gründlich mit Wasser abgespült werden);

2) macht die Tanninmethode z. B. beim Diphtheriebazillus und Streptokokken die Teilungslinien sichtbar, an denen zwei oder mehrere Stäbchen bzw. Kokken nach der noch nicht völlig erfolgten Teilung noch zusammenhängen. Farbstoffniederschläge können wohl schwer diese Befunde erklären;

3) stellt die Tanninmethode auch die Kapsel mancher Bakterien (z. B. Streptococcus mucosus) und die Membran der Sporen (z. B. Milzbrand-Hefesporen) dar. Ich verweise besonders auf das Bild der Hefesporen, wo nicht nur die äußere Hülle, sondern die gesamte Umgebung der Spore in der Farbe des nach der Tanninbehandlung angewandten Farbstoffs gefärbt erscheint;

4) färben sich die gramnegativen Bakterien trotz Tanninbehandlung total mit dem nachfolgenden Farbstoff, ein Befund, den die Annahme der Farbstoffniederschläge nicht zu erklären vermag;

5) läßt sich das Bakterienektoplasma auch ohne Tanninbehandlung färben, und zwar mit Hilfe der sog. Vitalfärbung: Bringt man z. B. lebende Anthraxbakterien in einer verdünnten Fuchsinlösung auf einen Objektträger und mikroskopiert, so erscheint zunächst die äußere Hülle der Bakterie gefärbt. Erst allmählich verschwindet diese, sobald der ganze Bakterienleib den Farbstoff aufgenommen hat. Ebenso läßt sich die Membran z. B. der Milzbrandsporen auch ohne Tannin färben, und zwar, wie ich oben erwähnt habe, mit Karbolfuchsin; und schließlich läßt sich

6) zeigen, daß die Tanninmethode auch die Membran der im Zellleib befindlichen Sporen isoliert darstellt. Daß aber im Innern des Zellleibes um die fertigen Sporen und nur um diese Farbstoffniederschläge nach der Tanninbehandlung auftreten sollen, ist äußerst unwahrscheinlich.

Uebrigens werde ich später über Methoden zur Darstellung des Ektoplasmas berichten, bei denen der Einwand der Niederschlagsbildung ausgeschlossen erscheint.

26. Vortrag. R. Mittermaier (Freiburg i. B.):

Phagozytose und Zellimmunität.

Ausgangspunkt meiner Untersuchungen war die Beobachtung, daß Leukozyten von Kaninchen und Meerschweinchen, die an Spontanabszessen erkrankt waren, in physiologischer Kochsalzlösung ein gesteigertes Phagozytosevermögen für Staphylococcus aureus besaßen. Während normalerweise in physiologischer Kochsalzlösung nur sehr wenige Leukozyten überhaupt phagozytieren und auch diese nur ganz vereinzelte Bakterien, waren die Leukozyten der eben erwähnten Abszeßtiere so mit Bakterien vollgestopft, wie man es nur bei einer Phagozytose in Serum zu sehen gewohnt ist. Aus den Abszessen wurde jedesmal Staphylococcus aureus gezüchtet.

Diese Beobachtung schien näherer Untersuchung wert. So wurden 6 Kaninchen teils mit staphylokokkenhaltigem Eiter intramuskulär, teils mit Staphylokokkenreinkulturen intramuskulär und intrapleural gespritzt. Die Leukozyten dieser Tiere, die vor dem Beginn des Versuchs in Kochsalzlösung nicht phagozytierten, zeigten bereits 8 Tage nach der Injektion, nachdem sich Abszesse gebildet hatten, jedesmal ein deutlich gesteigertes Phagozytosevermögen für Staphylokokken. Gleichzeitig angesetzte Kontrollversuche mit Leukozyten von 12 unbehandelten normalen Kaninchen ergaben, daß diese normalen Leukozyten meine Staphylokokken in keinem einzigen Falle zu phagozytieren vermochten; der Stamm — ich arbeitete immer mit ein und demselben hochvirulenten Staphylokokkenstamme — war also nicht etwa besonders leicht phagozytabel. Es handelte sich keinesfalls um das bekannte Phänomen der Spontan-Phagozytose. Andererseits stellte es sich heraus, daß andere Bakterien — Streptokokken, Milzbrand-, Typhus- oder Paratyphus B-Bazillen — von den Leukozyten der mit Staphylokokken infizierten Tiere niemals phagozytiert wurden. Wir waren also berechtigt, diese Phagozytose als einen für die Staphylokokkeninfektion spezifischen Vorgang anzusehen.

Wie sollte man sich nun diesen Vorgang der spezifischen Phagozytosesteigerung erklären?

Am nächsten lag der Gedanke an die bekannten spezifischen Immunstoffe des Serums, die Neufeld als Bakteriotropine bezeichnet hat. Gegen diese Deutung sprachen jedoch folgende Befunde: Bakteriotropine wirken lediglich auf die Bakterien ein, jedoch niemals als Stimulans auf die Leukozyten. Meine Versuche wurden jedoch mit 5mal gewaschenen Leukozyten angestellt; alles Serum war also entfernt; freie Serumschutzstoffe, die auf die Bakterien hätten einwirken können, waren also nicht mehr vorhanden. Vorsichtshalber wiederholte ich die alten Neufeldschen Kontrollen: Normale Leukozyten wurden mit dem Serum meiner Immuntiere versetzt und dann 5mal gewaschen; sie phagozytierten hinterher niemals in physiol. NaCl-Lösung, es wurden durch das 5malige Waschen tatsächlich alle Bakteriotropine entfernt. Schließlich wurde noch folgender Kontrollversuch angesetzt: Bakteriotropine werden bekanntlich bereits durch Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterienleibern erzeugt. So wurden denn 3 Kaninchen mit einer aus meinem Staphylokokkenstamm hergestellten Vakzine i. v. vorbehandelt. Die Leukozyten dieser Tiere phagozytierten jedoch in physiolog. Kochsalzlösung nicht. Auch dieses Ergebnis sprach gegen die Annahme, daß Bakteriotropine schuld an der Phagozytosesteigerung seien.

Die Tatsache, daß die beobachtete Phagozytosesteigerung nicht durch Vorbehandlung mit abgetöteten Bakterienleibern erzielt werden konnte, wohl aber durch Infektion mit lebenden Bakterien, ließ nun an einen ursächlichen Zusammenhang mit den bakteriellen Stoffwechselprodukten denken. Dieser Gedanke lag um so näher, als ja die Staphylokokken in dem Leukozidin einen Stoff absondern, der direkt auf die Leukozyten wirkt; außerdem war es niemals gelungen, eine ähnliche spezifische Phagozytosesteigerung etwa durch Vorbehandlung mit lebenden Typhus- oder Paratyphus-Bazillen zu erhalten. Es fragt sich also, ob sich unsere Phagozytosesteigerung mit bakterienfreiem Kulturfiltrat erreichen ließ. Infolgedessen ging ich dazu über, mehrere Tiere mit Leukozidinhaltigem Staphylokokkenkulturfiltrat intravenös zu spritzen. Das Filtrat wurde aus 9tägigen Reinkulturen in Rindfleischbouillon gewonnen.

An dieser Stelle möchte ich auf eine Beobachtung hinweisen, die für die Biologie des Staphylococcus aureus von Interesse ist. Nur in Bouillon, die aus Rindfleisch bereitet wurde, konnte ich (meist schon nach 4—6tägigem Aufenthalt im Brutschrank) die für Staphylokokken typischen Stoffwechselprodukte, das Leukozidin und das Hämolysin, nachweisen. In Pferdefleischbouillon produzierten die Staphylokokken, obgleich äußerlich das Wachstum anscheinend so gut war wie in anderen flüssigen Nährböden, keine Toxine. Die Giftwirkung des Filtrates wurde sowohl an Leukozyten wie an Erythrozyten ausgewertet. — Von diesem Filtrat spritzte ich als Anfangsdosis 0,2 ccm einer Verdünnung von 1:5 und stieg in den folgenden Tagen bis auf 0,4 einer Verdünnung von 1:1.

Bereits nach 8 Tagen, nach 3maliger Injektion, wurde die Phagozytose regelmäßig positiv. Es konnte also dieselbe Wirkung, die eine Infektion mit lebenden Bakterien hervorrief, auch durch die regelmäßige Einverleibung geringer Mengen von Bakterienstoffwechselprodukten erzielt werden. Selbstverständlich war damit irgendeine Beteiligung des Leukozidins an unserem Immunisierungsprozeß noch nicht nachgewiesen. Ehe man die gesteigerte Phagozytose mit der Injektion von Leukozidin in Beziehung bringen durfte, mußte untersucht werden, ob auch ein Unterschied in dem Verhalten der Leukozyten von normalen und denen von immunisierten Kaninchen gegen Leukozidin bestand.

Die Resistenz gegen Leukozidin wurde folgendermaßen untersucht. Kaninchenblut wurde in 1,5proz. Natriumcitratlösung aufgefangen, die Leukozyten in der üblichen Weise durch Zentrifugieren gewonnen, 5mal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, dann mit Leukozidin in abfallenden Mengen zusammengetan; nach 2stünd. Aufenthalt im Brutschrank wurde das Leukozidin wieder entfernt, zu den Leukozyten Normalserum und Bakterienaufschwemmung hinzugefügt. Dann wurde untersucht, in welchen Leukozidinkonzentrationen die Leukozyten nach Zusatz von Serum die Fähigkeit, zu phagozytieren, beibehalten hatten.

In Vorversuchen hatte sich herausgestellt, daß normale Leukozyten durch mein Staphylotoxin noch in einer Verdünnung von 1:100 soweit geschädigt wurden, daß sie ihr Phagozytosevermögen verloren. Tabelle I und II vergleichen nun die Leukozidinresistenz der Leukozyten von Kaninchen, die mit Staphylokokkenkulturfiltrat vorbehandelt (Tab. I) oder mit Staphylokokken infiziert (Tab. II) worden waren, mit der Resistenz normaler Leukozyten; der Kontrollversuch mit normalen Leukozyten wurde natürlich immer gleichzeitig mitangesetzt.

Aus den Tabellen entnehmen wir, daß sowohl die Behandlung mit Leukozidin, wie die Infektion mit lebenden Staphylokokken die Resistenz der Zellen gegen das Gift nur annähernd um das 10fache erhöht. Dieser Resistenz geht, wie gleichzeitige Untersuchungen ergaben

Tabelle 1.

Herkunft der Leukozyten	Leukozidin-Konzentration						Phagozytose in phys. NaCl-Lösung
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:150	
Normale Leukozyten vom Kaninchen	—	—	—	—	—	+	—
Leukozyten der mit Leukozidin immunisierten Kaninchen	+	+	+	+	+	+	+

— keine Phagozytose, + deutliche Phagozytose.

Tabelle 2.

Herkunft der Leukozyten	Leukozidin-Konzentration						Phagozytose in phys. NaCl-Lösung
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:150	
Normale Leukozyten vom Kaninchen	—	—	—	—	—	+	—
Leukozyten vom Kaninchen mit intramuskulärem Abszeß	—	+	+	+	+	+	+
Leukozyten vom Kaninchen mit Empyem	—	+	+	+	+	+	+

— keine Phagozytose, + deutliche Phagozytose.

(s. letzte Rubrik in Tab. I u. II), das Phagozytosevermögen in phys. NaCl-Lösung parallel. Damit ist freilich ein kausaler Zusammenhang zwischen Phagozytose und Resistenzsteigerung noch nicht bewiesen; es scheint jedoch die Vorstellung recht gut diskutabel, daß normale Leukozyten auf Grund der Schädigung, die sie durch die Stoffwechselprodukte der Staphylokokken erfahren, ihr Vermögen, die Bakterienleiber zu phagozytieren, verlieren, während Leukozidin-resistente Zellen dieser Giftwirkung der Bakterien widerstehen können und ihr Phagozytosevermögen beibehalten. Im Sinne dieser Erklärung spricht auch die Beobachtung, daß junge Kulturen, die noch wenig Stoffwechselprodukte gebildet haben, besser phagozytiert werden als alte Kulturen, daß die Stärke der Phagozytose im indirekten Verhältnis steht zum Alter der benutzten Staphylokokkenkultur.

Das Staphylokokkenkulturfiltrat enthält auch ein Hämolysin, das rote Blutkörperchen zur Auflösung bringt. So wurde zum Vergleich

Tabelle 3.

Herkunft der Erythrozyten	Konzentration des Kulturfiltrats										
	1:10	1:20	1:40	1:80	1:100	1:150	1:200	1:300	1:400	1:800	1:1600
Normale Erythrozyten	+	+	+	+	+	+	+	+	+	±	—
mit Hämolysin immunisierte Erythrozyten	+	+	+	±	±	±	±	±	—	—	—
Erythrozyten von Abszeßkaninchen	+	+	±	±	±	±	±	±	±	—	—

+ = vollkommene Hämolyse.
± = partielle Hemmung.
— = totale Hemmung.

auch die Resistenz der roten Blutzellen gegen dies Hämolysin geprüft (Tabelle III).

Gewaschene rote Blutkörperchen von Kaninchen wurden mit Hämolysin in abfallenden Mengen zusammengetan und auf 2 Std. in den Brutschrank gestellt. Nach weiterem 24stünd. Stehen bei Zimmertemperatur wurde der Grad der Hämolyse abgelesen. Dieser Zeitpunkt wurde gewählt, um einen möglichst einheitlichen Grad der Ablesung zu erreichen.

Auch die Tabelle zeigt, daß die Blutzellen infizierter und immunisierter Tiere ungefähr die 10fache Konzentration vertragen wie normale Blutkörperchen.

Auch bei diesen Versuchen geht es nicht an, die erhöhte Zellresistenz durch Antistoffe erklären zu wollen, die nach der Injektion von Staphylotoxin sich frei im Serum befinden; denn auch hier war das Serum durch 5maliges Waschen entfernt worden. Es scheint also tatsächlich, als ob die Blutzellen (und das gilt für Phagozyten und Erythrozyten) selbst die Träger der nachgewiesenen Resistenz sind. Damit ist aber noch nicht entschieden, ob nun die Zellen von sich aus aktiv immun geworden sind, oder ob sie lediglich Antikörper, die andernorts entstanden sein können, aus dem Serum adsorbiert haben. Diese Frage, die durch Vitroversuche schwer zu klären ist, bleibt noch offen. Das Resultat meiner Versuche zeigt aber, daß die Blutzellen sich jedenfalls auch ohne Serum als immun erwiesen haben.

Betonen möchte ich noch, daß diese Immunität keineswegs eine absolute ist. Die Vitroversuche zeigten, daß starke Konzentrationen auch die resistenten Zellen schädigen. Desgleichen kann man auch in vivo durch Ueberdosierung oder durch zu schnell aufeinanderfolgende Injektionen eher eine Schädigung der Zellen, als eine Resistenzerhöhung erzielen.

Noch kurz sei zum Schluß das Verhalten bei menschlichen Blutzellen erwähnt, denen naturgemäß unser Interesse am meisten gebührt. Da zeigte sich, daß die Leukozyten von Erwachsenen und von Kindern, von Kranken und von Gesunden, immer mehr oder weniger stark Staphylokokken phagozytierten. Zu gleicher Zeit stellte sich aber auch eine sehr starke natürliche Resistenz gegen das Staphylotoxin heraus. Selbst in einer Konzentration von 1:5 konnten weder die Leukozyten noch die Erythrozyten geschädigt werden. Es ist freilich schwierig, zu entscheiden, ob die als „gesund" bezeichneten Personen, auch die Kinder (zum Teil unter 6 Jahren), nicht doch schon eine Staphylokokkeninfektion durchgemacht haben. Immerhin ist auch hier die Gleichzeitigkeit zwischen Resistenz und Phagozytose bemerkenswert. Dann möchte ich auch noch darauf hinweisen, daß im menschlichen Serum von Natur aus Antileukozidin und Antihömolysin vorhanden ist. Die Möglichkeit, daß die Resistenz der Zellen auf einer festen Adsorption serologischer Antikörper beruht, besteht also auch hier.

Die Unklarheit über den Entstehungsmodus ändert aber nichts an der Tatsache, daß die Blutzellen von Tieren, die mit Staphylokokken oder ihren Stoffwechselprodukten vorbehandelt wurden, auch dann in spezifischer Weise verändert sind, wenn man alle freien Antikörper des Serums entfernt, und daß ähnliche Veränderungen bereits unter natürlichen Bedingungen beim Menschen vorgebildet zu sein scheinen.

Ueber eine durch spezifische Vorbehandlung erzielte Resistenz der Blutzellen gegen Staphylotoxine hat kürzlich Garra (Modena) berichtet; meine Versuch waren

völlig unabhängig von dieser Arbeit durchgeführt; die hier mitgeteilten Befunde lagen bereits im vorigen Jahre vor, doch schien es in Anbetracht der zahlreichen vorliegenden Arbeiten, in denen eine Leukozytenimmunität geleugnet wird, geboten, die Versuche vor der Publikation auf das eingehendste zu wiederholen.

Zusammenfassung.

Infiziert man Kaninchen mit lebenden virulenten Staphylokokken oder behandelt man sie mit leukozidin- und hömolysinhaltigem Staphylokokkenkulturfiltrat, so werden die Blutzellen der behandelten Tiere gegen Leukozidin, bzw. Hämolysin in erheblichem Maße resistent, die Leukozidinresistenz der Leukozyten geht mit einem gesteigerten Phagozytosevermögen für Staphylokokken in physiologischer Kochsalzlösung einher. Die Zellen erweisen sich auch dann als resistent, wenn man alles Serum durch mehrmaliges Waschen entfernt hat. Die Möglichkeit, daß es sich um serologische Antikörper handelt, die erst sekundär von den Zellen aufgenommen worden sind, ist darum freilich nicht ausgeschlossen; ausgeschlossen erscheint nur die Beteiligung freier Antikörper des Serums. Die Art und Weise, wie die Leukozyten- und Erythrozytenresistenz zustande kommt, ist also noch ungeklärt. Die Resistenz als solche dürfte jedoch experimentell erwiesen sein.

Zum Schluß möchte ich auch an dieser Stelle dem Ausschuß zur Förderung des wissenschaftlichen medizinischen Nachwuchses (Rockefeller Foundation) meinen Dank aussprechen, der es mir ermöglichte, vorliegende Arbeit zu Ende zu führen. Das Tiermaterial hat mir Herr Privatdozent Dr. Seiffert aus den Mitteln zur Verfügung gestellt, die ihm die Rockefeller Foundation zur Bearbeitung der Frage der „zellulären Immunität“ bewilligt hatte; er hat mich gebeten, an dieser Stelle der Rockefeller-Foundation gegenüber auch seinem Danke Ausdruck zu geben.

Aussprache.

Rosenthal (Göttingen): Die Beobachtungen, die uns eben vorgetragen sind, scheinen mir in theoretischer Hinsicht sehr bemerkenswert. Bekanntlich hatte ja Metschnikoff bei der Immunität eine spezifische Einstellung der Leukozyten gegen die Erreger, gegen die das Tier immunisiert ist, angenommen. Aber diese Theorie hatte sich bisher nicht beweisen lassen, weil alle Fälle gesteigerter Phagozytose sich auf die Wirkung der Serumbestandteile, Opsonine Wrights oder Bakteriotropine Neufelds zurückführen ließen. Nun aber, wenn Mittermaiers Befunde sich bestätigen, haben wir einen Fall, der Metschnikoffs ursprünglicher Theorie entspricht. Freilich gehen diese Befunde auch darüber hinaus, insofern es sich nicht um eine rätselhafte Vorliebe der Leukozyten für die spez. Staphylokokken, sondern um eine zelluläre Festigung gegen deren Gifte handeln soll, also echte zelluläre Immunität, unabhängig von Antikörpern im Serum. Insofern scheinen mir diese Beobachtungen auch einen wichtigen Beitrag zum Kapitel der Gewebs- oder örtlichen Immunität darzustellen. Denn wenn die Leukozyten auch Wanderzellen sind, so beruht der Unterschied der örtlichen und der allgemeinen Immunität doch wohl darauf, daß bei letzterer es sich um humorale Veränderungen, bei ersterer um Umstimmung des Protoplasmas bestimmter Zellen handelt.

27. Vortrag. Nißle (Freiburg i. B.):

Zur Bakteriologie der gesunden und kranken Mundhöhle.

Ich möchte mir erlauben, über die Ergebnisse einiger Untersuchungen zu berichten, die im letzten Jahre von Daber, Kupfer, Bielefeld und Picard unter meiner Leitung ausgeführt und neben zahnmedizinischem auch allgemein bakteriologisches Interesse beanspruchen[1]).

I. Die Untersuchungen von Daber befassen sich mit der Technik der Isolierung von Fäulniserregern. Zu ihrer Diagnose wurde in der bekannten Weise ihre Fähigkeit der H_2S-Bildung in S-haltigen Nährböden benutzt, Agar mit 5 Proz. Pepton oder als gleichwertig Agar mit 1 Proz. Pepton und 0,1 Proz. kolloidalem S. Außer den bisher gebräuchlichen Zusätzen von Plumbum aceticum (0,1 Proz..) und Ferrum tartaricum oxydatum (0,2 Proz.) wurden noch weitere Salze von Metallen mit charakteristisch gefärbten Sulfiden auf ihre Eignung geprüft, und zwar Argentum lacticum, Bismutum hydricum (0,5 bis 1 Proz.), Palladium chloratum (0,2 Proz.), Cadmium chloratum. Das Silbersalz erwies sich als zu labil, das Cadmiumsalz deshalb als unbrauchbar, weil die gelbe Farbe des Sulfids zu wenig hervortrat.

Röhrchenagarkulturen boten den Nachteil einer in toto erfolgenden Bräunung, die eine Isolierung von Kolonien ausschloß; als geeignet erwiesen sich nur Gießagarplatten. Zur Ausschließung der störenden Wirkung des Luftsauerstoffs genügt es dabei im allgemeinen, wenn die erstarrten Platten mit einer mindestens 2 mm hohen Schicht gewöhnlichen Agars übergossen werden.

Die Bräunung der Fäulnisbakterienkolonien war am stärksten in den Platten mit Blei-, Wismut- und Eisenzusatz ausgeprägt, Palladiumzusatz bräunte weniger (aber doch noch deutlich). Bei der Auswahl der Metallsalze ist ferner zu berücksichtigen, daß, an Typhusbazillen gemessen, das Blei- und Palladiumsalz in der benutzten Konzentration eine deutliche bakterienhemmende Wirkung zeigt; es kommen nur etwa halb so viele Typhusbazillen zur Entwicklung als in metallsalzfreien Kontrollen und in wismut- und eisensalzhaltigen Kulturen.

II. Die von Kupfer übernommene Aufgabe behandelt die Frage, ob die Mundflora in Verbindung mit dem Luftsauerstoff in ähnlicher Weise Eiweißabbauprodukte in sauerstoffhaltige Stickstoffverbindungen überzuführen imstande ist, wie dies bei der Selbstreinigung des Bodens geschieht. Der Umstand, daß fast regelmäßig salpetrige Säure im Speichel nachweisbar ist, deutete auf die Möglichkeit eines derartigen Nitrifikationsprozesses hin.

Es zeigte sich indes, daß der Gehalt des Speichels an salpetriger Säure nur geringen Schwankungen unterliegt, die nicht im Sinne eines Ansteigens seit der letzten Nahrungsaufnahme gedeutet werden können. Auch fand sich niemals Salpetersäure. Versuche in vitro ergaben bei geeigneter Temperatur nur eine Vermehrung des ursprünglichen Gesamtammoniaks (Proteidammoniak und Ammonsalze), das in 3 Tagen bei 37° auf die vierfache Menge ansteigen konnte und nur auf Bak-

1) Dissertationen Kupfer und Bielefeld 1923, Dissertationen Daber und Picard 1924, sämtlich Freiburg i. B.

terienwirkung zurückzuführen ist, da der Speichel kein eiweißabbauendes Ferment enthält; eine Nitrifikation war auch nach längeren Zeiträumen nicht nachweisbar. Nach diesen Versuchen dürfte der Gehalt des frischen Speichels an salpetriger Säure lediglich auf der Wirkung einer im Speichel vorhandenen Oxydase beruhen, nicht auf Bakterientätigkeit.

III. Die Untersuchungen von Bielefeld betrafen einen Vergleich der aus dem Speichel gesunder und kariöser Mundhöhlen gewonnenen Milchsäurebakterien. Die auf Lakmus- oder Kreide-Milchzuckeragar isolierten Stämme ließen morphologisch und tinktoriell (Gram) keine deutlichen Unterschiede erkennen; gesunde und kranke Mundhöhlen lieferten säurebildende Streptokokken und Stäbchen. Dagegen zeigten die Milchsäurebildner der kariösen Mundhöhle durchweg ein üppigeres Wachstum auf Milchzuckeragar und eine höhere Säurebildung als diejenigen der gesunden Mundhöhle. Wurden Magermilchkulturen der verschiedenen Stämme 2 Tage bei 37° gehalten und nun ihre Azidität titrimetrisch mit n/4 NaOH bestimmt, so verbrauchten je 50 ccm Milch,

mit Bakterien der gesunden Mundhöhle beimpft, 5,9—16,8 ccm,
„ „ „ kariösen „ „ , 22,5—34,8 „ .

Die Unterschiede in den chemischen Leistungen beider Bakteriengruppen sind also recht erhebliche. Die größere Wachstumsintensität und die höhere Säurebildung der Bakterien aus kariöser Mundhöhle dürfte aber doch keinen Anlaß bieten, sie als besondere Spezies den Milchsäurebildnern der gesunden Mundhöhle gegenüberzustellen; vielmehr wird man in den ersteren nur Modifikationen erblicken müssen, die sich erst unter dem Einfluß der fortschreitenden Karies entwickelt haben.

IV. Die Beobachtungen von Escherich, Moro, Tissier, Straßburger u.. a., nach denen das Grambild der Kotflora in charakteristischer Weise durch Lebensalter, Ernährungsart und pathologische Darmprozesse beeinflußt wird, gaben mir Anlaß, das Gramverhalten der Bakterienflora aus gesunden und kranken Mundhöhlen prüfen zu lassen. Die Aufgabe wurde von Picard an 127 Zungenbelagabstrichen durchgeführt — so ließ sich am besten speiserestfreies Mundmaterial gewinnen — und hatte recht interessante Ergebnisse:

A. Gesunde Mundhöhlen.

(Bei Erwachsenen relativ selten, da auch beginnende Karies, leichte Raucherkatarrhe u. ä. auszuschließen waren.)

a) 30 Säuglinge (8 Brustkinder, 9 Brust-Flaschenkinder, 6 Flaschenkinder, 7 Flaschen-Breikinder).

Durchweg überwog Grampositiv über Gramnegativ.

b) 9 Kleinkinder (vom vollendeten 1. Lebensjahr bis zum Beginn des Schulalters)..

Teils Grampositiv, teils Gramnegativ überwiegend.

c) 8 Schulkinder und Jugendliche (6.—20. Lebensjahr).

Durchweg Gramnegativ überwiegend.

d) 15 Erwachsene, darunter 2 Vegetarier.

Durchweg Gramnegativ überwiegend.

B. Kranke Mundhöhlen.

(Katarrhe, Gingivitiden, Karies, Zahnstein.)

65 Fälle, darunter 1 Säugling und 2 Kleinkinder..

Bei 61 = 92 Proz. überwog Grampositiv über Gramnegativ, die 4 übrigen verhielten sich umgekehrt.

Wenn auch eine befriedigende Erklärung für das abweichende Verhalten dieser 4 Fälle nicht gegeben werden kann (Einfluß der Behandlung, trotz aller Vorsicht übersehene kleine Speiserestbeimengungen?), so können sie bei ihrer geringen Zahl das Gesamtergebnis nicht wesentlich beeinflussen, das, kurz zusammengefaßt, lautet:

In der Mundhöhle gesunder Personen überwiegt bis zur Vollendung des 1. Lebensjahres der grampositive Anteil der Bakterien. Von da ab bis zum Beginn des Schulalters finden wir wechselnde Befunde. Alle älteren Personen weisen mehr gramnegative als grampositive Mundbakterien auf.

In kranken Mundhöhlen jedes Lebensalters pflegen die grampositiven Bakterien zu überwiegen.

Die Art der Ernährung und, wie noch hinzugefügt werden muß, auch die Mundpflege sind ohne Einfluß auf das Grambild.

In einigen Fällen konnte nach Ablauf pathologischer Prozesse der Umschlag der Mundflora ins Gramnegative festgestellt werden, und es liegt bei dem anscheinend gesetzmäßigen Verhalten der Mundflora die Frage nahe, ob sich das Grambild in der Praxis diagnostisch und prognostisch verwerten läßt. Zu dem Zweck müßte vor allem durch tägliche Kontrolle erkrankter Mundhöhlen geprüft werden, wann der Umschlag ins Gramnegative einsetzt, im Beginn oder erst am Schluß der Heilungsvorgänge. Auf Säuglinge und Kleinkinder dürften sich allerdings wegen des andersartigen Verhaltens der gesunden Mundflora derartige Untersuchungen nicht erstrecken.

---

28. Vortrag. Werner Rosenthal:

Demonstration eines neuen Mikroorganismus aus der Mundhöhle.

Ich will nur wenige Worte zur Erläuterung der aufgestellten Präparate sagen. Die bisher bekannten Bakterien, wenigstens die im engeren Sinne (Eubacterieae) sind alle drehrund, d. h. ihr Querschnitt senkrecht auf die längste Achse stellt immer einen Kreis dar. Bei den Untersuchungen über die fadenförmigen Mikroorganismen der Mundhöhle, die auf meine Anregung Herrr Zahnarzt Max Prelle anstellte (In.-Dissert. Göttingen, 1923), fiel uns nun ein Mikroorganismus auf, der in Tuschepräparaten und noch besser in kolloidalen Farbmischungen nach Eisenberg sehr charakteristische Bilder gab und in solchen Präparaten von Zahnbelag regelmäßig und bei vielen Personen in großer Zahl vorhanden war. Ein genaueres Studium lehrte, daß diese Bilder so zu deuten sind, daß hier ein flaches, bandförmiges Gebilde um seine eigene Mittelachse (nicht ganz regelmäßig) gedreht ist und so in der Farbschicht

angetrocknet ist, daß es bald breit, aber von Farbe bedeckt, also ziemlich dunkel erscheint, bald, von der Kante gesehen, ganz schmal, aber leuchtend weiß aussieht. Zunächst möchte man diese Bilder als etwas ungleiche Zellglieder mit eingeschnürten Zellgrenzen und nicht gleichmäßigem Zellinhalt deuten.

In ungefärbten und in nach üblicher Weise gefärbten Präparaten sind diese Gebilde nicht oder kaum aufzufinden. Dagegen gelingt es, wenn man sich über ihre eigentümliche Gestalt einmal klar geworden ist, sie im Dunkelfeld sowie in Giemsapräparaten zu erkennen, obgleich sie auch hier viel weniger auffallen und daher viel seltener zu sein scheinen als in den negativen Färbungen. Darauf beruht es wohl auch, daß sie bisher nicht in ihrer Sonderart erkannt worden sind, sondern wahrscheinlich immer mit dem Bac. maximus buccalis Miller zusammengeworfen wurden. Dafür spricht auch die Abbildung, die Miller selbst gibt, die neben mehreren ganz walzenförmigen Fäden einen mit Einschnürungen gegliederten zeigt, eine Form, die unseres Erachtens nicht in den Kreis des Bac. max. bucc. gehört. Auch die spiraligen Kerne, die 1906 Swellengrebel als manchen Wachstumsstadien des Bac. max. bucc. eigentümlich beschrieben hat, sind, wie ich vermute, auf eine Verwechslung dieser beiden Mikroorganismen zurückzuführen. Uebergänge von den walzenförmigen und ähnlich wie die Milzbrandfäden durch kreisförmige Scheidewände in einzelne Bazillen gegliederten Bac. max. bucc. zu diesen bandförmigen Gebilden haben wir bei Eisenbergfärbung nie beobachtet. Bei Ueberfärbung (mit Fuchsin- oder Gentianaviolett) scheinen beide Formen wohl kaum unterscheidbar zu sein, weil die charakteristische Gestalt der Bänder durch die Farbe verdeckt wird. Bei zarter Färbung dagegen und in den ungefärbten Präparaten sind diese wegen ihrer Dünnheit und geringen Lichtbrechung nicht zu erkennen, wie sie auch im Dunkelfeld aus letzterem Grunde kaum hervortreten.

Der wesentliche Unterschied der Gestalt zwingt uns, den neuen Mikroorganismus von den eigentlichen Bakterien zu trennen. Zu den Spirochäten, bei denen ja für einige Arten Abweichungen vom drehrunden Querschnitt vermutet werden, bestehen keinerlei Beziehungen; schon die Dimensionen, insbesondere die Breite, sind viel größer als bei irgendwelchen Spirochäten, abgesehen von den eine Sonderstellung einnehmenden, aber auch ganz anders färbbaren Muschelspirochäten. Ebensowenig hat die spiralige Drehung etwas zu tun mit einer Beziehung zu den Spirillen: denn diese sind alle von drehrundem Querschnitt, die Mittelachse ihres Leibes ist spiralig gewunden um eine außerhalb des Leibes gelegene Achse. Hier aber ist das Band um seine eigene, durchaus gerade Mittelachse gewunden.

Es hat sich nun herausgestellt, daß es nicht nötig ist, für diesen „bandförmigen Mikroorganismus", wie ihn Prelle in der Dissertation beschreibt, einen neuen Genusnamen zu suchen. Denn 1906 hat der schottische Mikrobiologe Ellis ein Eisenbakterium unter dem Namen Spirophyllum ferrugineum beschrieben, mit dem unser Mundorganismus in seinen wesentlichen morphologischen Eigentümlichkeiten und auch in seinen Maßen übereinstimmt. Die Beschreibung des Eisenbakteriums von Ellis (das bis dahin anscheinend mit Gallionella zusammengeworfen wurde), ist in den Hauptpunkten 1911 von Lieske bestätigt worden. In beiden Fällen handelt es sich um schwer färbbare Bänder, die zwar infolge der Windungen eine gewisse Gliederung, aber doch keine Zell-

grenzen und keine deutliche innere Struktur erkennen lassen, und die vollkommen unbeweglich sind. Ellis gibt eine Breite der Bänder von 1—6 μ und eine Dicke von 0,25—0,5 μ an, Prelle maß Breiten von 2—3 μ und Dicke von 0,5—0,75 μ, Windungsabschnitte von 5—10 μ Länge von einem Umschlag [um 180°] zum andern. Daneben beobachteten wir auch sehr kleine, sonst aber ganz gleich gebaute Formen, deren Maße 0,75—1 μ in der Breite und 0,3—0,4 μ in der Dicke betrugen, und deren Windungen entsprechend kürzer waren. Die Länge der Fäden haben wir bis zu 200 μ beobachtet, andererseits sehr häufig Bruchstücke, die nur 1—2 Windungen entsprachen. Möglicherweise handelt es sich hier in der Mundhöhle um zwei nahe verwandte, aber doch durch die Maße unterschiedene Formen; doch muß man vorsichtig sein bei ihrer systematischen Trennung, da Ellis ausdrücklich die sehr wechselnden, aber durch Uebergänge verbundenen Dimensionen betont, und Lieske dies zu bestätigen scheint. Ellis beschreibt bei seinem Organismus Vermehrung durch Konidien, die seitlich durch Knospung entstehen, aber in wenig überzeugender Weise. Eine Bestätigung für seine Anschauung liegt nicht vor; Lieske, der hauptsächlich die biologischen Eigenschaften beachtet, sagt gar nichts über die Fortpflanzung. Wir haben auch nichts über die Vermehrung beobachten können, jedenfalls keinerlei Andeutung von Konidienbildung.

Ellis gibt von seinem Spirophyllum ferrugineum an, daß es nicht ein einfaches Band, sondern ein solches mit verdickten Rändern sei; derartiges haben wir nicht beobachten können. Die übrigen Unterschiede zwischen Ellis' und unserem Mikroorganismus sind bisher biologische: Fundort, Temperaturoptimum, Reduktion von Eisenoxydul.

Dieser bandförmige Mundorganismus bedarf noch sehr weiterer Untersuchung. Ich halte mich aber für berechtigt, ihn schon heute als Spirophyllum Ellis contortum n. sp. zu benennen. Nach unseren bisherigen Beobachtungen lassen sich 2 Formen, latum und tenue, unterscheiden; ob dies nur Entwicklungsstadien oder Modifikationen sind, oder ob sich eine 3. Art als Spirophyllum tenue wird abtrennen lassen, muß die Zukunft lehren.

---

29. Vortrag. Hilgers (Königsberg i. Pr.):

Der Bacillus necrodentalis (Goadby) bei Zahnkaries.

Als eine praktische Auswirkung der Variabilität der Bakterien ist die Tatsache festzustellen, daß nicht allzu selten verschiedene Formen ein und desselben Mikroorganismus zum Range von Arten mit eigenem Namen erhoben und hierdurch manche Gebiete der Bakteriologie mit einer häufig unabsehbaren Fülle von Bezeichnungen verwirrt werden. Besonders auf Schleimhäuten, wo die Konkurrenz der Bakterien, die wechselnde chemische Zusammensetzung des Substrats, Temperaturwechsel, äußere Schädigungen Standorts-Varietäten erzeugen, haben wir eine Fülle von Namen, die, wie genauere Untersuchung und Verfeinerung der Methodik uns lehren, das gleiche Kleinlebewesen bezeichnen.

Auch die Bakteriologie des kariösen Zahnes ist bei genauerer Untersuchung der aufgefundenen Bakterienarten einfacher und eindeutiger geworden. Noch im Jahre 1884 beschrieb Miller und seine Schüler 10 verschiedene Arten von Karieserregern, von denen mehrere identisch sind, teils nur Varietäten bekannter Bazillengruppen darstellen. Siebert zeigte im Jahre 1900, daß es sich bei Zahnkaries fast ausschließlich um das Vorkommen von Streptokokken handelt, und nach den ausgedehnten Untersuchungen Kruses aus dem Jahre 1903 kann man es als feststehend betrachten, daß der Streptococcus lacticus in der Tiefe des kariösen Zahnes das Feld beherrscht.

Zwar ging dann noch lange Zeit über die Art der aufgefundenen Streptokokken infolge ihrer großen Variabilitätsfähigkeit ein Streit der Meinungen, doch ist es sicher, daß es sich bei diesen Streptokokken nur um Varietäten ein und desselben Typus handelt.

Immerhin wurden bereits bei den ersten Untersuchungen, auch bei den Autoren, die Streptokokken feststellten, neben den gefundenen Streptokokken grampositive feine Stäbchen beschrieben, die gelegentlich auf den Platten und den flüssigen Nährböden auftauchten. Nach der Beschreibung müssen wir annehmen, daß ein großer Teil dieser Stäbchenformen zur Gruppe der Pseudodiphtherie oder Subtilis gehört, zum Teil aber auch erklärt sich die Auffindung grampositiver Bazillen aus dem bekannten Pleomorphismus des Streptococcus lacticus, der gelegentlich zu Stäbchenbildung neigt. Anders liegen die Verhältnisse bei dem von Delleve im Jahre 1889 unter Behrings Leitung aus kariösem Zahnbein gezüchteten Bazillus, der vorwiegend anaerob wuchs, dessen Kolonien klein und sehr zart blieben, außerordentlich langsames Wachstum zeigten und die Fleischbrühe deutlich sauer machten. Im Jahre 1899 fand der bakteriologisch gut geschulte Goadby in den tiefen Schichten des kariösen Zahnes den sogen. Streptococcus brevis und beschrieb gleichzeitig einen zweiten Säurebildner, ein ausgesprochenes Stäbchen, das er Bacillus necrodentalis nannte. Dieser sogen. Bacillus necrodentalis ist dann auch späterhin mehrfach wiedergefunden worden. Kantorowicz usw. beschreibt von ihm drei Typen, von denen der erste, da er ziemlich schnell wächst, die Fleischbrühe gleichmäßig trübt, ziemlich große Kolonien bildet, zwanglos als stäbchenartige Variation des Streptococcus lacticus gedeutet werden kann, auf deren Bedeutung Seitz auf dem vergangenen Mikrobiologentag 1922 hingewiesen hat. Typus II und III deckt sich in der Beschreibung mit dem Necrodentalis Goadby und auch mit dem Acidophilus-Typ, der in der Milch vorkommt und in der Vagina als Bacillus vaginalis von Basten und von Jötten beschrieben worden ist. In neuerer Zeit ist auch von ausländischer Seite auf das Vorhandensein solcher stäbchenförmigen Bazillen in den tieferen Schichten des Zahnbeins aufmerksam gemacht worden. Im Jahre 1922 veröffentlichten Mac Intosh und Barlow die Züchtung eines Bazillus aus kariösen Zähnen, der aus Kohlehydraten viel Säure produziert und mit dem Namen Bacillus acidophilus odontolyticus belegt wurde.

Bei den bakteriologischen Untersuchungen, die im Hygienischen Institut gemeinsam mit Dr. Precht über die bakterielle Infektion der Dentinkanälchen angestellt wurden, fanden sich mehrfach im hängenden Tropfen fadenförmige, in zierlichen Ketten wachsende grampositive Bazillen, die auf der Platte erst nach Tagen erschienen, klein und zart blieben und bei schwacher Vergrößerung durchweg einen ge-

wellten Rand hatten. Auf Grund dieser Befunde wurde dann systematisch die Tiefe der kariösen Zähne in der Zone zwischen gesundem und krankem Gewebe auf das Vorhandensein solcher Stäbchenformen untersucht und dabei das bekannte Verfahren angewendet, wie es Rodella und späterhin Basten zur Züchtung des Bacillus acidophilus angewandt hatten. Eine Reihe frisch extrahierter Zähne wurden steril von dem erweicht kariösen Gewebe befreit und mit neuem Bohrer etwa 1 mg Zahnstaub entnommen und unter Anlegung fallender Verdünnungen in Traubenzuckerbouillon gebracht, die mit Essigsäure angesäuert war. Die so beschickten in hoher Schicht gefüllten Röhrchen zeigten in den ersten 6 Röhrchen das Wachstum von Streptococcus lacticus, in den ersten 2, manchmal auch 3 Röhrchen fanden sich unbewegliche grampositive schlanke Stäbchen, welche auf der sauren Traubenzuckerplatte, die anaerob angelegt wurde, neben den größeren Kolonien des Streptococcus lacticus auch die kleineren Kolonien des bekannten Acidophilus zeigten. Ich übergehe hier, der Kürze halber, die weiteren kulturellen Untersuchungen, deren Ergebnis mit den kulturellen Merkmalen des Acidophilus-Typ der langen Milchsäurebazillen übereinstimmten. Um kulturell, serologisch und im Tierversuch den Vergleich mit dem bekannten Bacillus acidophilus aus Säuglingsstuhl vornehmen zu können, wurden 4 Reinkulturen von Bacillus acidophilus und 5 Reinkulturen des Bacillus necrodentalis miteinander verglichen.

Als wichtigstes kulturelles Merkmal ist die Milchsäurebildung aus den verschiedenen Sacchariden anzusehen. Geprüft wurde Milchzucker in Milchnährböden in 1proz. Lackmusmilchzuckerbouillon, Dextrin, Malzzucker, Rohrzucker und Mehlarten. In den Mehlnährböden war das Wachstum so schlecht, daß ein Resultat nicht erzielt wurde. In Milch schwankte die Säurebildung der beiden Bakteriengruppen in weiten Grenzen, doch findet sich eine ungefähre Uebereinstimmung der Säureproduktion bei Berechnung des Mittelwertes.

Für Mäuse waren beide Gruppen vollkommen unschädlich.

Die serologische Identifizierung der Milchsäurebakterien ist bekanntlich schwierig, da die Streptokokken zu freiwilliger Verklebung neigen. Aeltere Kulturen des Bac. necrodentalis und Bac. acidophilus blieben, gründlich verrieben, frei von jeder Spontanagglutination, so daß, nachdem durch Kaninchenimpfung vom Acidophilus und auch Necrodentalis ein Immunserum hergestellt war, die Agglutination mit beiden Stämmen vorgenommen werden konnte. Es agglutinierte das Immunserum des mit Necrodentalis vorbehandelten Tieres sowohl den Bac. necrodentalis als auch den Bac. acidophilus, letzteren allerdings nicht bis zur Titergrenze, doch ergab der Castellanische Absättigungsversuch, daß Haupt- und Nebenagglutinine entfernt wurden. Ebenso war es umgekehrt, Acidophilus-Immunserum agglutinierte den Bac. necrodentalis bis zur Titergrenze. Immunserum des Bac. necrodentalis ergab bis zu 0,05 ccm eine deutliche Hemmung der Hämolyse mit Acidophilus und umgekehrt, während die Hämolyse bei Verwendung von Strept. lacticus als Antigen schwach war, Staphylokokken überhaupt nicht gehemmt wurden.

Es handelt sich also bei dem Bac. necrodentalis nicht um eine Varietät des Strept. lacticus, sondern um ein wohlbekanntes Bakterium, und zwar um den gewöhnlichen Bac. acidophilus, der ja auch sonst fast regelmäßig in der Milch, im Säuglingsdarm, auf Schleimhäuten mit dem Strept. lacticus vergesellschaftet schmarotzt. Daß er so selten bei syste-

matischen bakteriologischen Untersuchungen kariöser Zähne gefunden worden ist, verdankt er vor allem seinem vorwiegend anaëroben Wachstum und seiner Vorliebe für saure Nährböden. Wir kommen damit auch auf diesem Gebiete zu einer erwünschten Vereinfachung der bakteriologischen Nomenklatur. Bei den Bakterien des kariösen Zahnprozesses steht neben dem Strept. lacticus wie auch sonst regelmäßig der Bac. lacticus (Kruse). Hierzu also gehört der „Necrodentalis Goadby", der „Dentinalis Dellevie", der „Odontolyticus" englischer Autoren.

Nach dem Vorschlage Kruses möge man diese Gruppe unter dem Namen „Bacillus lacticus" zusammenfassen, im Gegensatz zu dem Bestreben, die zahlreichen Varietäten der langen Milchsäurebazillen auch in der Bakteriologie des Kariesprozesses zum Range von Arten zu erheben.

Aussprache zu Vortrag 27—29.

Heim (Erlangen) (verlesen): Der Bac. necrodentalis ist von den anderen von uns in kariösen Zähnen, im Zungenbelag und im Säuglingsstuhl gefundenen grampositiven, nicht sporenbildenden Stäbchen durch folgende Merkmale zu unterscheiden:

1) Er ist schlanker als die anderen.

2) Er bildet auf der Gelatineplatte bezeichnende Ausläufer (die Gelatine muß dazu oberflächlich beimpft werden). Siehe dazu die Abb.

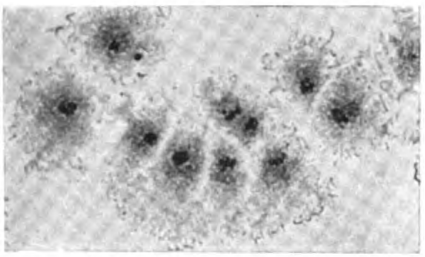


Fig. 1. Bac. necrodontalis, 11 Tage alte Ansiedelungen auf Gelatine. 35fach.

3) Er macht Lackmusmilch weiß, aber nicht schon binnen 7—17 Std. wie der Strept. lactis, sondern etwas später, er bringt die Milch unter nach unten fort-

	Wachstum auf der Gelatineplatte	Lackmusmilch		Gasbildung	Säurewerte in			Außerdem gefunden in
		Farbe	Gerinnung		Leber-Leberbrühe	Fleischbrühe mit Traubenzucker	Fleischbrühe mit Milchzucker	
Bac. necrodent.	Ausläufer	weiß, dann rot	2. Tag	—	10,0	7,2	6,3	Brustmilchstuhl
Stäbchen K a	Knochenkörperchenähnlich	blau	—	+	8,6	3,0	2,4	—
b	—	rötl., dann rot	spät	—	8,9	2,8	2,8	—
c	keine Ausläufer	rötlich	—	—	12,4	3,9	3,4	Brustmilchstuhl
d	—	blau, dann rot	spät	—	12,0	4,0	1,5	—
e	—	blau	—	—	8,3	3,2	1,0	Brustmilchstuhl
Scheidenbaz. Döderlein	—	blau, dann rosa	—	+	8,3	6,9	6,1	—
Stäbchen aus Pulpit. absced.	—	rötlich	—	+	7,3	4,2	2,5	—

schreitender Rötung etwa am 2. Tage zur Gerinnung, also etwas später als der Strept. lactis.

Die Säurewerte (ausgedrückt in ccm n/10-Lauge auf 10 g) wurden gefunden: in Milch zu 12,1, in Leber-Leberbrühe zu 10,0, in Fleischbrühe mit Traubenzucker zu 7,2, mit Milchzucker zu 6,3 ccm.

4) Er bildet in Traubenzuckerbrühe kein Gas.

Der Bac. necrodent. wurde in 23 kariösen Zähnen 8mal gefunden, außerdem 12mal andere grampositive Stäbchen, die sich in 5 Arten unterbringen ließen und mit Buchstaben K (Karies) a—e bezeichnet wurden.

Nur b und d bringen die Milch zur Gerinnung, aber spät.

Nur a und c wachsen auf Gelatine bei Zimmerwärme.

Keines der 5 Stäbchen macht die Lackmusmilch weiß wie Bac. necrodentalis: sie machen sie entweder nur rötlich (c) oder verändern sie überhaupt nicht (a und e).

Nur a bildet Gas, die anderen 4 nicht.

In Zungenbelag fand sich ein mit Ka übereinstimmendes Stäbchen.

Von drei in 2 Brustmilchstühlen gefundenen Arten grampositiver Stäbchen stimmte je eines überein mit Bac. necrodentalis, mit Stäbchen Kc und (wahrscheinlich) Stäbchen Ke.

---

30. Vortrag. Haim (Hamburg):

Fettstudien[1]).

Zwei Versuchsreihen, über deren erste schon Much berichtet hat, die mit einer größeren Anzahl von Schweinen angestellt wurden, ergaben die Möglichkeit, bei gesunden Tieren durch Einspritzung von den Fettbestandteilen des Tuberkelbazillus (Partigene F und N) fast ausnahmslos Veränderungen zu erzeugen, wie sie den besonderen Bildern des beim Menschen vorkommenden Tuberkels entsprechen: einzelne wie auch Konglomerattuberkel mit Erweichungsherden, Epitheloidzellen und Langhanssche Riesenzellen. Ein Einfluß der Vorbehandlung, die mit Partigenen, abgetöteten Tuberkelbazillen, Cholesterin und Lecithin vorgenommen wurde, übte auf die Reizantworten keinen deutlich erkennbaren Einfluß aus. Von den Schweinen wurden 10 einer genauen Durchsuchung bei der Leichenöffnung unterworfen, wobei es in keinem Falle gelang, tuberkulöse Veränderungen nachzuweisen, auch nicht bei mikroskopischer Durchmusterung der makroskopisch unveränderten Drüsen.

Um zu erfahren, ob vielleicht durch die Vorbehandlung eine Umstimmung der Schweine hervorgerufen war, wurden wiederholte Quaddelimpfungen angestellt. In die Haut der Ohren, die in ihrem Aufbau der menschlichen sehr ähnelt, wurden folgende Stoffe gebracht: sämtliche Partigene, teils in starker Mengenzusammensetzung, teils in den in der Klinik üblichen Verdünnungen, abgetötete Tuberkelbazillen, eine Lecithinaufschwemmung, Alttuberkulin in einer Verdünnung von 1:10 und bei einem Tiere eine Reihe von Streptothrixbestandteilen, die wie die Partigene des Tuberkelbazillus durch Milchsäureaufschließung gewonnen waren. Hierbei ergab die erste Quaddelimpfung bei allen Tieren eine starke Papelbildung auf die Einspritzungen mit abgetöteten Tuberkelbazillen und dem Neutralfettbestandteil des Tuberkelbazillus. Alle anderen Quaddeln boten keine oder nur schnell abklingende Veränderungen dar, so auch sämtliche mit Alttuberkulin angelegten. Im Gegensatz dazu antworteten alle Tiere, mit Einschluß der überhaupt nicht mit Tuberkelbazillenteilstoffen vorbehandelten, bei der zweiten

1) Die Arbeit wurde ermöglicht durch eine Stiftung der Heilstätte „Holstein".

Reihe I: 29. 8.—29. 10.

		29 8	30. 8.	1. 9.	3. 9.	6. 9.	8. 9.	10. 9.	24. 9.	28. 9.	12.10.	29.10
I	Tb.-Baz.	+	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+
(R)	Lecithin	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	M.Tb. R	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A.-T.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	M.Tb. L	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	M.Tb. A	—	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
	M.Tb. F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	M.Tb. N	—	—	+	+	++	++	++	++	+	+	—
II	Tb.-Baz.	—	+	+++	++	++	++	+	+	+	+	+
(L)	Lecithin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	R	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	A.-T.	—	—	+	++	+	—	—	—	—	—	—
	L	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	—	+	+	++	++	++	++	++	+	+	—
III	Tb.-Baz.	—	+	+++	++	++	++	+	+	+	+	+
(Chol.)	Lecithin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A.-T.	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A	—	—	(+)	+	—	—	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	—	—	++	++	++	++	++	++	+	+	—
IV	Tb.-Baz.	—	—	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+
(N)	Lecithin	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A.-T.	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—
	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	+	++	++	++	++	++	++	++	+	+	—
V	Tb.-Baz.	+	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+
(Lec.)	Lecithin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	R	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A.-T.	—	—	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	—	++	++	+	+	—	—	—	—	—
	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	—	—	(+)	+	++	++	++	++	+	+	—
VI	Tb.-Baz.	—	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
θ	Lecithin	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	R	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
	A.-T.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	L	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	A	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	F	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	N	—	—	—	+	++	++	+++	++	++	++	++

Prüfung verhältnismäßig stark auf die Partigene und besonders auf das Alttuberkulin. Die Tuberkulinreaktionen entsprachen hierbei den Bedingungen, die zur Kennzeichnung tuberkulöser Schweine mit der Tuberkulinquaddelprobe in der Tierheilkunde angegeben werden. Dabei ist zu bedenken, daß die Leichenöffnung unserer Tiere nicht den geringsten

Reihe II: 30. 10.—17. 12.

31.10.	2. 11.	5. 11.	7. 11.	9. 11.	12. 11	14. 11.	16. 11.	19. 11.	24. 11.	5. 12.	10.12.	17.12.
(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−		
+	++	++	++	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)		
++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	+	+		
+	++	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)		
(+)	+	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−		
(+)	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−		
+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
+	(+)	(+)	(+)	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−
++	++	++	++	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	−	−
(+)	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
++	++	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−
++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	(+)	(+)	(+)
			+	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−
			++	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	−
Oedem			+++	+++	++	++	++	+	(+)	(+)	(+)	−
			+	+	+	−	−	−	−	−	−	−
			+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	−
			+++	++	++	++	++	+	+	+	+	+
			+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	+
+	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	
++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+		
++	++	+++	+++	++	++	+	+	(+)	(+)	(+)		
+	++	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	−	−		
++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++		
++	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	+		
++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++		
+	+											
+	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+	++	++	++	++	++	++	+	−	−	−	−
+	++	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)
+	++	++	++	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)
+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
+	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
+	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−
++	++	++	++	+	+	+	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)
(+)	+	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+
(+)	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
+	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

Anhaltspunkt für einen tuberkulösen Vorgang darbot. Daß eine wesentliche Veränderung der Reizfähigkeit der Tiere mit zunehmendem Wachstum auszuschließen war, bewies das Ausbleiben von Reizantworten bei Einspritzung von unabgestimmten Stoffen und Streptothrixpartigenen in die Haut.

Zum Vergleich der eben angeführten Verhältnisse mag die Gegenüberstellung der Beobachtungsreihe auf der beigegebenen Tafel dienen.

Nach der Tötung der Tiere wurden die noch vorhandenen Papeln und Knötchen herausgeschnitten und zu Gewebsschnitten verarbeitet, die verschiedenen Färbungen unterworfen wurden. Die Begutachtung der Präparate übernahm Prof. Eugen Fraenkel, ohne im einzelnen über die Herkunft der Schnitte unterrichtet zu sein. Seine Protokolle zeigen folgendes Ergebnis: Die Einspritzung der konzentrierten Partigene F und N, wie auch abgetötete Tuberkelbazillen, erzeugten die kennzeichnenden Bilder des Tuberkels: „Riesenzellenhaltige Tuberkel, Epitheloidtuberkel, echte Konglomerattuberkel, Konglomerattuberkulose mit zahlreicher Riesenzellenbildung und stellenweise zentraler Verkäsung, Herde mit deutlicher Tuberkelstruktur.“ Wie schon angedeutet, war ein Einfluß der Vorbehandlung nicht erkennbar; die Tuberkelformen waren auch bei überhaupt nicht oder nur unabgestimmt vorbehandelten Schweinen nachweisbar. Die Veränderungen nach Einspritzung mit den Partigenen in stärkerer Verdünnung waren nur in einem Falle für Tuberkel kennzeichnend; dagegen erinnerten sie vielfach in einzelnen Zügen an sie; bei Zusammenstellung aller Präparate ergab sich eine Reihenfolge der mannigfaltigsten Abstufungen vom Tuberkel bis zu ganz uncharakteristischen entzündlichen Veränderungen, ganz ähnlich, wie wir es auch bei den verschiedensten Formen der Hauttuberkulose sehen.

Die Prüfung der Sera ergab keine regelmäßig nachweisbaren komplementbindenden Kräfte bei den einzelnen Schweinen.

Zusammenfassend ergibt sich die Tatsache, daß es gelungen ist, bei nicht tuberkulösen Tieren, bei denen auch eine frühere Tuberkuloseansteckung ausgeschlossen ist, sowie bei solchen, die nicht mit Teilstoffen des Tuberkelbazillus vorbehandelt sind, durch ungeformte Bestandteile des Tuberkelbazillus einwandfreie Tuberkel und den spezifisch tuberkulösen Hautveränderungen ähnliche Bilder zu erzeugen. Und zwar sind es F und N, der Fettsäure-Lipoid- und der Neutralfettanteil, die diese Fähigkeit besitzen. Das ist ein neuer Beleg für die Wichtigkeit dieser Stoffe, die dem Tuberkelbazillus seine Sonderstellung unter den krankmachenden Erregern zuweisen. Gleichzeitig war die Reaktion aller Tiere gegenüber Tuberkulin und den Partigenen eine solche, wie sie Tieren, die schon früher mit Tuberkulose angesteckt waren, eigen ist, ohne daß jedoch irgendwelche Tuberkulosespuren nachweisbar waren.

Das Wichtigste ist, daß die Tuberkelbildung und überhaupt die „spezifische“ Reaktion bei unseren Tieren nicht abhängig ist von vorheriger Berührung mit dem Gesamttuberkulosevirus, sei es auch nur in nicht vermehrungsfähiger Form. Selbst die Vorbehandlung mit Teilbestandteilen des Tuberkelbazillus schien nicht nötig zu sein, um typische tuberkulöse Antworten mit eben diesen Teilbestandteilen zu erhalten.

Aussprache.

Weleminsky (Prag): Die Bildung von zweifellos tuberkulösem Gewebe nach Einführung der F- und N-Bestandteile stimmt mit den Beobachtungen von Auclair überein, der bereits vor längerer Zeit durch Injektion eines Aetherextraktes der Tuberkelbazillen ähnliche Resultate erzielte. Daß Lipoide des Tuberkelbazillus Antigencharakter haben können, hat vor kurzem auch Dienes, derzeit in Amerika, gezeigt, allerdings nur die alkohollöslichen, und auch diese insbesondere in Verbindung mit Eiweißkörpern. Daß Eiweißkörper allein eine allergische Umstimmung des Körpers dem Tuberkulin gegenüber herbeiführen können, ist ebenfalls vor kurzem in einer amerikanischen Arbeit nachgewiesen worden.

Uhlenhuth (Freiburg i. Br.): Ich möchte auf die Diskussionsbemerkungen hinweisen, die ich gestern schon machte, daß nämlich bei Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit verschiedenen (abgetöteten) Bakterienarten (Typhus, Coli usw., sowie Organen von Meerschweinchen) und Nachimpfung mit Tuberkulin (intrakutan) eine unspezifische Tuberkulinreaktion (wenn auch nicht regelmäßig) auftritt. Es scheint mir in diesem Zusammenhang interessant, nochmals auf diese Tatsache hinzuweisen.

Haim (Schlußwort): Wenn Uhlenhuth für das Meerschweinchen (das allerdings wegen seiner Unfähigkeit, Antilipoide zu bilden, für Tuberkuloseimmunitätsstudien ungeeignet erscheint) nachgewiesen hat, daß die intrakutane Tuberkulinreaktion nicht als spezifisch anzusehen ist, so entspricht das unseren Befunden am Schwein, wo wir sogar bei gesunden und unvorbehandelten Tieren starke Tuberkulinreaktionen sahen. Diese Befunde sind um so wichtiger, als die Schweinehaut, vor allem die der Ohren, der menschlichen so außerordentlich ähnlich ist.

Wir lehnen nicht die Möglichkeit ab, Tuberkel auch durch Eiweißkörper des Tuberkelbazillus zu erzeugen, wenn diese vielleicht in schwer resorbierbarer Form eingeführt werden. Wichtig erscheint uns, daß die angeführten amerikanischen Forscher mit dem alkohollöslichen Lipoidbestandteil des Tuberkelbazillus Tuberkel erzeugen konnte; für Schweine dürfte aber diese Eigenart der Tuberkelbazillenfette und -lipoide erst durch die vorgetragenen Untersuchungen dargelegt sein.

Es ist nicht von der Hand zu weisen, daß in gewissem Sinne eine unabgestimmte Vorbehandlung der Schweinehaut von selbst entsteht, da die Tiere bekanntlich leichte Ekzeme nicht selten haben. Dadurch könnte eine gewisse Hautumstimmung auch gegenüber den Tuberkelbazillenstoffen gesetzt werden. Eine Möglichkeit, auf diese Art das Skrofuloseproblem aufzufassen (Much), liegt vor.

Demonstrationen.

31. A. Arndt (Rostock):

Demonstrationen zur Kenntnis der Kulturamöben.

Der Vortragende demonstrierte aus seiner Sammlung etwa 30 verschiedene Rhizopodenarten, zeigte an einer Art den Einfluß der verschiedenen Agar-Nährböden auf die Wuchsform der Amöben und legte Zeichnungen und Mikrophotogramme von der Teilung einer Amöbenart vor. Die Art besitzt einen neben dem Kern liegenden Nebenkörper, dessen Substanz bei der Teilung am Aufbau der Spindel beteiligt ist. In der späten Anaphase werden aus den Spindelenden die Nebenkörper der Tochtertiere abgeschieden. — Bei der Teilung mehrkerniger Tiere stehen die Spindeln der einzelnen Kerne stets in auffälliger Beziehung zueinander derart, daß bei zwei Kernen die Spindeln mit einem Pol zusammenstoßen und in einer Geraden liegen; bei drei Kernen stoßen entweder alle drei Spindeln in einem Punkt zusammen und bilden miteinander Winkel von je 120° oder die drei Spindeln liegen in einer Geraden. Bei vier Spindeln haben drei einen Pol gemeinsam und bilden Winkel von 120°, die vierte schließt sich an eine der drei andern im Winkel von 180°, an oder alle vier Spindeln liegen in einer Geraden. — Neben Kernen mit normaler Chromosomenzahl kommen solche mit doppelter Chromosomenzahl vor, die sich noch normal teilen. Außerdem finden sich häufig polyploide Kerne, bei denen aber keine normale Teilung mehr stattfindet.

Die ausführliche Arbeit über die Teilung dieser Amöben erscheint im Archiv für Protistenkunde.

---

32. Brekenfeld und Kirchner (Rostock):

Demonstrationen zur Anaerobentechnik.

Der Gummiabschluß, den ich Ihnen hier für die Einzelplatte, für den Exsiccator und das Weckglas vorführe, ist von den Nachteilen frei, welche den bisher gebräuchlichen Abdichtungsmitteln, dem Plastilin und dem Fettwachsgemisch, anhaften. Er ist rasch und sauber anzulegen und unbedingt zuverlässig, weil er vom Temperaturwechsel unbeeinflußt bleibt, im Gegensatz zu Plastilin und Fettwachsgemisch.

Der Gummiabschluß besteht aus zwei Gummiringen; in diese wird beim Evakuieren durch den äußeren Luftdruck beim Einzelplattenverfahren der Plattenrand selbst, beim Exsiccator ein zwischen beide Gummiringe gelegter Drahtring eingepreßt, so daß eine lineare, absolut zuverlässige Abdichtung entsteht. Die Zuverlässigkeit läßt sich leicht nachprüfen, wenn man ein selbstverfertigtes Manometerröhrchen (s. Cbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd, 91, Heft 5) in den Kulturraum bringt, welches seinen Stand beliebig lange unverändert behält.

Für das Einzelplattenverfahren ist also erforderlich die Kulturschale, die starkwandig sein muß, (Schalen von 3 cm Höhe und 2—3 mm Wandstärke sind bei Leitz erhältlich), zwei Gummiringe, eine Spiegelglasscheibe und ein kleines Schälchen zur Aufnahme der Pyrogallol-Kalilauge. Das Evakuieren geschieht mittels einer langen und schmalen Saugdüse, einem Bestandteil des Konservierungsapparates Saxonia (der jetzt auch von Leitz in den Handel gebracht wird), indem man die Düse zwischen die Gummiringe schiebt und nach beendetem Auspumpen zurückzieht.

Bei den Arbeiten mit Einzelplatten muß dem Umstande Rechnung getragen werden, daß durch die Kalilauge das Wachstum unmittelbar über dem Pyrogallol-Schälchen vielfach gehemmt wird. Wie einer von uns (Brekenfeld) sich in dem Laboratorium von Herrn Dr. Zeißler überzeugen konnte, ist das Arbeiten mit dem Exsiccator hierin dem Einzelplattenverfahren entschieden überlegen. Das Einzelplattenverfahren wird auch wegen seiner zeitraubenden Handhabung da dem Exsiccator weichen müssen, wo sehr viel anaerob gearbeitet wird, aber für besondere Zwecke seine Bedeutung behalten. Diese Nachteile haften aber auch allen sonstigen die Pyrogallol-Kalilauge verwendenden Einzelplattenverfahren an; da dies zur Züchtung nicht sporenbildender, sauerstoffempfindlicher Anaerobier wohl nicht zu entbehren ist, wurde versucht, diese Nachteile durch eine in Anlehnung an die Küstersche Schale getroffene Anordnung zu beseitigen: die Spiegelglasscheibe ist in der Mitte durchbohrt, auf ihrer Oberseite trägt sie wie sonst eine Kulturschale, auf der Unterseite befindet sich durch Gummiring abgedichtet, eine ähnliche Schale, in die das Schälchen mit Pyrogallol-Kalilauge kommt, sodaß also der Nährboden ihrem Einfluß vollkommen entzogen ist[1]). Zur Vermeidung jeder Austrocknung kann man etwas Wasser in die untere Schale oder eine angefeuchtete Zellstofflage

1) Anmerkung bei der Korrektur: Inzwischen hat sich auch die umgekehrte Anordnung bewährt: Kulturschale unten, darauf Gummiring mit etwa 3mal schräg durchbohrter (Bohrloch ca. 5 mm Durchmesser) Glasplatte (ca. 6 mm dick), darauf 2 Gummiringe mit Pyrogallolschälchen enthaltender Glasschale (umgekehrt aufgesetzt). Diese Anordnung schließt ein Herunterfallen des Nährbodens auch bei größtem Vakuum aus.

auf die Spiegelglasscheibe bringen. Ein weiterer für die Trennung sporenbildender Anaerobier nicht gleichgültiger Nachteil liegt in dem kleinen Format der verwendeten Platten; es ließen sich aber natürlich auch Platten in der Größe der Petrischalen bei genügender Wandstärke verwenden.

Für das Weckglas ist der Verschluß prinzipiell derselbe; es ist aber zu empfehlen, in jedem Falle ein Manometerröhrchen mitgehen zu lassen, das jede Undichtigkeit anzeigt.

Für den Exsiccator wurde der Verschluß verwendbar gemacht durch Zwischenlegen eines Drahtringes zwischen die Gummiringe. Die Form der Exsiccatoren ist an und für sich gleichgültig, vorausgesetzt, daß zwei Bedingungen erfüllt sind, nämlich daß der Exsiccator absolut sicher schließt, und daß die Pyrogallol-Kalilauge so untergebracht ist, daß die Kulturschalen vor ihrem eintrocknenden Einfluß geschützt sind. Bei zylindrischen Exsiccatoren mit flachem Deckel, desgleichen beim Weckglas, ist dies in der Weise zu erreichen, daß man auf den Boden des Gefäßes etwas Wasser bringt und in dieses hinein eine Schale mit der Kalilauge setzt, das Pyrogallol wird in einem Papptellerchen auf die Kalilauge gesetzt, darüber kommt ein niedriger Dreifuß, der mit einer angefeuchteten Zellage bedeckt ist, und auf diesen die Kulturschalen.

---

33. Manteufel (Dahlem):

Demonstration eines neuen Seitz-Filters für Laboratoriumszwecke.

Herr Geheimrat Uhlenhuth hat vor einigen Jahren bei den Seitz-Werken in Kreuznach für den Laboratoriumsgebrauch einen Asbestfilter für bakterienfreie Filtration herstellen lassen. (Demonstration auf der Tagung in Würzburg 1922.) Im Reichsgesundheitsamt ist dieses Filter seit mehr als Jahresfrist in ständigem Gebrauch bei der Sterilfiltration der präzipitierenden Antisera, die für praktische Zwecke abgegeben werden, und hat sich so bewährt, daß seitdem die früher für diesen Zweck benutzten Berkefeldfilter nicht mehr in Anwendung kommen. Die verschiedenen Immunkörper werden bei der Filtration zwar etwas im Titer herabgesetzt, aber damit muß man beim Berkefeldfilter auch rechnen. Bezüglich Keimfreiheit haben die E. K.-Filter bisher vollkommen zuverlässig gearbeitet. Auch bei der Filtration von Rauschbrandkulturen für Impfstoffgewinnung hat Herr Zeller in der Veterinärabteilung des Amtes zuverlässige Ergebnisse gehabt.

Fig. 1. Lab.-Filter der Seitzwerke (Kreuznach) 6 cm Filterfläche.

Den Vorzug der Asbestfilter sehe ich vor allem in der einfachen Handhabung, da bei jeder Filtration nur eine neue Scheibe eingelegt zu werden braucht, während man die Berkefeldkerzen waschen und öfter benutzen muß, wobei sie Verletzungen ausgesetzt sind. Eine E. K.-Filterscheibe kostet weniger als 4 Pfennige.

Das Modell von Uhlenhuth war so eingerichtet, daß neben der Unterdruckwirkung durch Saugen auch mit Ueberdruck gearbeitet werden konnte. Für diesen letzteren Zweck diente ein aufgesetztes Fahrradventil. Ich habe nun das Modell durch Vereinfachung des Schraubverschlusses umarbeiten und das Fahrradventil fortnehmen lassen. Dadurch ist eine erhebliche Verbilligung des Apparates eingetreten, so daß er bei einem Preise von 10 M. von jeder Untersuchungsstelle angeschafft werden kann. Der Betrieb ist billiger und einfacher als beim Berkefeldfilter.

Soweit ich mich überzeugen konnte, lassen sich außer den Präzipitinen, über die eine große Reihe von günstigen Ergebnissen vorliegt, auch Agglutinine und Ambozeptoren durch diese Asbestscheiben filtrieren, ebenso ist es mit Komplement. Man muß natürlich bei allen diesen Körpern mit einer gewissen Titerverminderung rechnen, aber das ist beim Berkefeldfilter auch der Fall.

Außer den E. K.-Schichten für Keimfreifiltration bringen die Seitzwerke auch sogen. K-Schichten in den Handel, die nur zum Klären von getrübten Lösungen bestimmt sind und keine Keimfreiheit garantieren. Ich habe diese K-Schichten mit Vorteil für die Vorbereitung von Eiweißantigenen für die Präzipitation benutzt und sehe den Vorzug gegenüber der Filtration durch Papier in der besseren Klärung und gegenüber der Filtration durch Asbestflocken im Büchnerschen Trichter darin, daß die für die Seitzfilter benutzten Asbestsorten darauf ausgesucht sind, daß sie kein Alkali abgeben und den p_H-Gehalt nicht verändern.

Das Filter ist in 2 Größen erhältlich, nämlich mit einer 6 cm Durchmesser haltenden Filterschicht (Volumen 100 cm) und einer 3 cm Durchmesser haltenden (Volumen 30 ccm).

---

34. Sobernheim (Bern):

Spirochätenbefunde bei den sogen. Malayenfibromen (Demonstration).

Als Malayenfibrome werden jene eigenartigen multiplen fibromatösen Geschwülste bezeichnet, auf die zuerst Jeanselme und etwa gleichzeitig Steiner die Aufmerksamkeit gelenkt haben. Ursprünglich nur in Malayengebieten beobachtet, sind diese Geschwülste späterhin auch in Madagaskar, sowie in Ost- und Nordafrika festgestellt worden, und einen ersten europäischen Fall hat de Quervain beschrieben.

Die Tumoren treten gewöhnlich in der Nähe der Gelenke auf („nodosités juxta-articulaires"), nicht selten symmetrisch auf beiden Seiten, schwanken in der Größe von kleinen erbsengroßen Knötchen bis zu Faustgröße, sind ziemlich scharf abgegrenzt und charakterisieren sich in histologischer Hinsicht durch eine Außenschicht aus fibrösem Bindegewebe mit einer bisweilen ausgedehnten zentralen Nekrose. Auch sonst finden sich Veränderungen, wie sie das syphilitische Gumma aufweist.

Aus klinischen, epidemiologischen und histologischen Gründen wurden die sog. Malayenfibrome mit Syphilis oder Framboesie in Zu-

sammenhang gebracht. Die Aetiologie blieb aber lange Zeit ungeklärt, bis van Dijke und Oudendal den Nachweis von Spirochäten des Pallidatypus erbrachten. Obwohl die Angaben der Autoren verschiedentlich bezweifelt worden sind, beweisen die hier aufgestellten mikroskopischen Schnittpräparate (Silberimprägnierung nach Levaditi und Noguchi), die ich der Güte des Herrn Dr. Oudendal verdanke, wohl unzweifelhaft, daß sich in den Tumoren Spirochäten finden, die dem Typus der Pallida gleichen. Die Präparate weisen an manchen Stellen die Spirochäten in großer Zahl auf.

Daß der Spirochätennachweis nur selten gelingt, hängt vermutlich damit zusammen, daß derartige Tumoren wie auch andere tertiäre Produkte der Syphilis die Spirochäten gewöhnlich nur sehr spärlich enthalten.

Arbeiten, deren Inhalt als Diskussionsbemerkung mitgeteilt ist (Nr. 35—42), und Vorträge, die wegen der Kürze der zur Verfügung stehenden Zeit nicht gehalten sind (43—46).

---

35. K. Pesch (Köln) (s. S. 39*):

Ueber experimentell erzeugte Wunddiphtherie.

(Gleichzeitig ein Beitrag zur Variabilitätsfrage der Corynebakterien.)

Die Arbeiten, die sich in der Kriegs- und Nachkriegszeit mit der Frage der Wunddiphtherie beschäftigt haben, zeigen uns, daß wir den klinischen Begriff und den bakteriologischen Begriff der Wunddiphtherie auseinanderhalten müssen. Denn nicht in allen Fällen, wo auf Wunden Membranen oder membranähnliche Gebilde beobachtet werden, werden Diphtheriebakterien oder diphtheroide Bakterien gefunden; dagegen sind von ganz unverdächtig aussehenden Wunden echte virulente Löfflersche Diphtheriebakterien isoliert worden. Viele von den Arbeiten über diese Frage haben keine Klarheit gebracht, weil sie bakteriologisch nicht ganz genau bearbeitet waren. Nur wenige, ich nenne die von Kißkalt-Anschütz, Weinert-Nieter, Schloßberger, Lubinski, Bachmann, Landau und in der letzten Zeit Großmann und Radice, halten einer eingehenden Kritik stand: sie alle zeigten uns, daß zwischen dem klinischen und bakteriologischen Begriff Wunddiphtherie ein Riß klafft, und daß ferner auf verdächtigen und unverdächtigen Wunden Corynebakterien verschiedener Arten (um den sicher praktischen und wohl auch historisch bevorrechtigten Sammelbegriff der Lehmann-Neumannschen Terminologie zu gebrauchen) vorkommen können. Eine eingehende Kenntnis sämtlicher Corynebakterien-Arten muß die Grundlage für Untersuchungen über Wunddiphtherie bilden. In mehreren, jetzt in Druck befindlichen Arbeiten der letzten drei Jahre habe ich versucht, Genaueres über die Systematik und Biologie der Corynebakterien festzustellen, um eine systematische Einteilung aller nur erreichbaren hierhin gehörigen Stäbchen zu geben.

Tabelle I.
Systematik der Corynebakterien (nach K. L. Pesch).

Gruppe	Virulenz	Löfflerserum		Blutagar		Zuckervergärung in 1-proz. Pepton-Zuckerlösung					Bezeichnung
		Bakterienform	Polkörnchenbildung	Wachstumsstärke	Wachstumsart	Dextr.	Sacch.	Lakt.	Malt.	Laev.	
I a	+	sehr lang schlank	+++	+	klar	+	—	—	±	+	echte virulente Löfflersche Di-B.
I b	—	sehr lang schlank	+++	+	klar	+	—	—	±	+	echte avirulente Löfflersche Di-B
II	—	mittellang	—	++	weißlich	—	—	—	—	—	Pseudo-Di-B (Hofmann-Wellenhof)
III	—	mittellang bis kurz	+ bis —	+++	üppig weiß	verschieden					Saprophytisch-diphtheroide Bakt. (z. B. Para-Di-B Lubinski und viele andere)
IV	—	lang bis mittel	+ zum Teil septiert	±	klar	—	—	—	—	—	Xerose-Gruppe
V	—	Farbstoffbildner									
VI	—	Atypische Formen									

Tabelle I soll zeigen, wie ich unter Heranziehung verschiedener morphologischer und biologischer Kennzeichen 6 verschiedene Gruppen im Genus Corynebacterium unterscheide. Weitere Untersuchungen, auf die ich hier nicht näher eingehen kann, zeigten mir, daß auf Haut und auf Wunden der verschiedensten Art Vertreter aller dieser 6 Gruppen angetroffen werden können.

Zwei Fragestellungen waren es, die mich bei meinen gemeinsam mit dem Chirurgen Dr. Drügg ausgeführten Untersuchungen besonders interessierten:

1) Läßt sich klinisch Wunddiphtherie, also Membranbildung experimentell erzeugen, und welche Arten von Corynebakterien sind daran beteiligt?

2) Treten bei künstlicher Infizierung steril gesetzter Wunden mit Corynebakterien der verschiedenen Arten Variationen oder Mutationen auf, z. B. Umwandlungen von echten Löfflerschen Diphtheriebakterien in Lubinskische Wunddiphtherie-Bakterien oder andere diphtheroide Bakterien und umgekehrt?

Ueber die Frage der Bakterienmutation ist hier ja schon so so eingehend berichtet worden, daß mir nicht mehr viel zu sagen übrig bleibt. Was meinen eigenen Standpunkt zu dieser Frage angeht, so möchte ich nur folgende 3 Punkte noch besonders hervorheben:

1) Ich halte es für notwendig, bei der Definition des Begriffes der Mutation das teleologische Moment der Artumwandlung d. h. der Bildung neuer Arten besonders stark zu betonen. Formen, die z. B. aus alten Kulturen gezüchtet werden, starke Wachstumshemmung und gleichzeitig im mikroskopischen Bild atypische Formen zeigen, bei den Corynebakterien z. B. Kokkenformen, übermäßig stark ausgebildete Keulenformen, Ungleichmäßigkeit der Färbung, Degeneration des Pro-

toplasmas usw. sind meines Erachtens keine Mutations-, sondern Involutions- oder Degenerationsformen, auch wenn sie sich in den nächsten Generationen noch nachweisen lassen. Für Bildung neuer Arten kommen diese in ihren biologischen Funktionen gehemmten Formen nicht in Frage.

2) In Uebereinstimmung mit den von bakteriologischer Seite viel zu wenig beachteten Arbeiten des Zoologen Viktor Jollos halte ich es für sehr zweckmäßig, zwischen den Begriffen Modifikation und Mutation noch den Begriff der Dauermodifikation einzuschieben. Nur wenn wir auf Grund jahrelanger Beobachtung, evtl. auch nach Einschiebung von Tierpassagen, festgestellt haben, daß die neue Art ihre Formen unverrückbar beibehalten hat, daß also wirklich etwas dauernd Neues entstanden ist, sind wir berechtigt, von Mutation zu sprechen. Erleben wir auch erst nach langer Zeit einen Rückschlag in die Ausgangsform, so dürfte es richtiger sein, von einer Dauermodifikation zu sprechen.

3) Zwei Kräfte sind es, die für das Entstehen einer vorliegenden Bakterienform verantwortlich zu machen sind. Erstens die Neigung zur Variabilität, die bei verschiedenen Bakterienarten und innerhalb derselben Art bei verschiedenen Stämmen verschieden stark ausgebildet sein kann. Bei den Corynebakterien ist nach meinen Untersuchungen diese Variabilitätsneigung sicher nicht in erheblichem Ausmaß vorhanden, es besteht also eine stark ausgebildete Artkonstanz. Der zweite Faktor der für die Bakterienform verantwortlich zu machen ist, ist die Umwelt im weitesten Sinne des Wortes; also alle äußeren Einflüsse, wie Feuchtigkeit oder Trockenheit des Nährbodens, Ernährungsverhältnisse ganz allgemein wie Reaktion des Nährbodens, autolytische Spaltprodukte, Giftstoffe, Desinfizientien, dann auch Wirtswechsel und vieles andere mehr. Auf eine kurze Formel gebracht, könnte man sagen:

$$F = V \times U$$

oder die Bakterien-Form ist das Produkt aus der Variabilitätsneigung des betreffenden Stammes und denjenigen Faktoren, die als Umwelt einen Einfluß auf sie ausüben können. Daß die Dauer der Einwirkung dieser Umweltsverhältnisse auch eine große Rolle bei der Bildung neuer Bakterienformen spielt, ist selbstverständlich.

Was die klinische Seite unserer Untersuchungen angeht, so konnte

1) Die Beobachtung über die Reinhardt, Feiler, Braun u. a. schon berichtet haben, erneut bestätigt werden, daß sich Meerschweinchen sehr gut von Wunden aus mit virulenten Diphtheriebakterien tödlich infizieren lassen. Es scheint mir deswegen nicht ungefährlich zu sein, menschliche Wunden mit virulenten Diphtheriebakterien zu infizieren wie Radice und Großmann es getan haben.

2) Was die Membranbildung angeht, so zeigte es sich, daß der Begriff „Membran" nur sehr schwer zu fassen ist; es zeigen sich alle Uebergänge vom feinsten Fibrinschleier über den eitrigen Belag bis zur speckigen oder dickfibrinösen abziehbaren Membran.

Wie die Tabelle II zeigt, hatten wir inbetreff der Membranbildung die besten Erfolge bei künstlicher Mischinfektion von avirulenten typischen Diphtheriebakterien mit hämolytischen Streptokokken. Bei Wundinfektion mit virulenten Diphtheriebakterien, sowohl mit als auch ohne Streptokokkeninfektion hatten wir niemals einen positiven Erfolg. Auch die Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-Diphtheriebakterien

Tabelle II.

Membranbildung auf mit Corynebakterien künstlich infizierten Meerschweinchen-Muskelwunden.

	Wunden infiziert mit	Zahl der infizierten Tiere	Membranbildung		
			+	?	—
1.	unbeimpft	7	—	—	7
2.	echte virulente Di-B (Gr. Ia)	4	—	—	4
3.	echte virulente Di-B (Gr. Ia) + Antitoxin	2	—	—	2
4.	Pseudo-Di-B (Gr. II)	4	—	—	4
5.	echte avirulente Di-B (Gr. Ib)	16	4!	3	9
6.	Diphtheroide B (Gr. III) (6 × Lubinskis Wund Di-B)	10	2! alle 4 infiziert mit Wund-Di-B	2	6
7.	Mischinfektion: echte virulente Di-B (Gr. Ia) + Antitoxin + Streptokokken	1	—	—	1
8.	Mischinfektion: echte avirulente Di-B (Gr. Ib) + Streptokokken	4	4!	—	—
9.	Mischinfektion: Wund-Di-B (Lubinski) (Gr. III) + Streptokokken	1	—	1	—
10.	Streptokokken allein	3	—	2	1

machten niemals fibrinöse Auflagerungen. Die Resultate mit echten avirulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien allein, also ohne Streptokokken Mischinfektion sowie auch mit Lubinskischen Wunddiphtheriebakterien allein waren schwankend wie aus den Zahlen der Tabelle ohne weiteres hervorgeht.

Technik. Bei 58 Meerschweinchen wurde unter strengster Asepsis in Rückenhaut, Faszie und Rückenmuskulatur eine im Durchmesser etwa 4—5 cm große zerfetzte Muskelwunde gesetzt, diese Wunde mit 24 Stunden alten Löfflerserum-Reinkulturen beimpft und die Wunde dann unter strengster Wahrung der Sterilität mit Mastisolverband und Binde geschlossen und darüber, um ein Abrutschen des Verbandes zu verhindern, eine Decke aus dichtem Stoff festgenäht. Die 58 untersuchten Tiere wurden geimpft:

1) mit echten virulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien (Pesch Gr Ia) teils mit, teils ohne vorherige Antitoxininjektion,

2) mit echten avirulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien (Pesch Gr Ib, die den typischen avirulenten Diphtheriebakterien Neißers entsprechen würden),

3) mit Hoffmann-Wellenhofschen Pseudo-Diphtheriebakterien (Pesch Gr II),

4) mit verschiedenen Vertretern der 3. Gruppe, darunter auch einigen Lubinskischen Wunddiphtheriebakterien,

5) mit echten Löfflerschen Diphtherie-Bakterien oder Wunddiphtheriebakterien und gleichzeitig mit hämolytischen Streptokokken,

6) mit hämolytischen Streptokokken allein.

Bei der Kürze der Zeit kann ich hier über die Ergebnisse unserer Untersuchungen nur das Wichtigste berichten.

1) Aseptisch gesetzte, nicht infizierte Wunden ließen sich unter keinen Umständen steril halten. Bei den auf diesen nichtinfizierten Wunden auftretenden Keimen handelte es sich meistens um Staphylokokken, doch konnten in einzelnen Fällen auch Corynebakterien nachgewiesen werden, die verschiedenen meiner Gruppen (I, III, IV, VI) angehörten; es fanden sich also auf nicht infizierten Wunden auch morphologisch und kulturell vollkommen typische Löfflersche Diphtheriebakterien, diese erwiesen sich im Tierversuch als avirulent. (Neißers „typische avirulente" Diphtheriebakterien, Pesch, Gruppe Ib.)

2) Bei Wunden, die mit echten Diphtheriebakterien infiziert waren, traten vereinzelt andersartige Corynebakterien auf. Da jedoch, wie gesagt, dieser Befund auch auf nichtinfizierten Wunden erhoben werden konnte. so kann dies nicht als Beweis für die Umwandlung der einen Form in die andere angesehen werden, wie Großmann und Radice das tun, besonders, da dieser Befund immer nur vereinzelt blieb.

3) Uebergangsformen von der einen Gruppe in die andere, Verlust einzelner Eigenschaften wie Traubenzucker- oder Saccharosevergärung habe ich nie beobachtet, auch keine morphologischen Degenerationserscheinungen.

4) Längeres Verweilen (3—4 Wochen) von virulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien auf Wunden von mit Heilserum geschützten Meerschweinchen brachte keinen Virulenz-Verlust zustande, und umgekehrt gelang es uns nicht, avirulente Stämme der ersten Gruppe auch nach dreimaliger Meerschweinchen-Wundpassage in virulente Diphtheriebakterien umzuwandeln.

5) Die Wundheilung der gleich großen Wunden verlief stets gleichmäßig in 2—3 Wochen, unabhängig von der Art der in die Wunde hineingebrachten Keime. Nur künstliche Mischinfektion mit hämolytischen Streptokokken verzögerte die Ausheilung erheblich, in einzelnen Fällen bis zu 6 Wochen. Beziehungen zwischen Membranbildung und Wundheilungsverlauf wurden nicht festgestellt.

Ich fasse kurz zusammen:

1) Beweise für eine Umwandlung von Corynebakterien auf Wunden konnten nicht gebracht werden. Der Nachweis neuer Formen auf mit Corynebakterien künstlich infizierten Wunden ist für Mutation nicht beweisend, da auch auf nicht infizierten Wunden Diphtheriebakterien oder diphtheroide Bakterien auftreten. Uebergangsformen oder Aenderungen in der Virulenz in der einen oder anderen Richtung wurden nicht beobachtet.

2) Klinische Wunddiphtherie, also Membranbildung, wurde regelmäßig durch eine Mischinfektion avirulenter echter Löfflerscher Diphtheriebakterien mit hämolytischen Streptokokken, unregelmäßig durch Infektion von Wunden mit avirulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien allein oder Lubinskischen Wunddiphtheriebakterien allein, überhaupt nicht durch Infektion mit echten virulenten Löfflerschen Diphtheriebakterien oder Hofmann-Wellenhofschen Pseudo Diphtheriebakterien erzielt.

36. J. Schumacher (Berlin) (siehe S. 39*):

Zur Gramschen Färbung[1]).

(Mit Demonstrationen.)

Ungeklärt war bisher die Frage, ob die Gramsche Färbung auf physikalischen oder chemischen Prozessen beruht, strittig die Frage, bei Annahme chemischer Vorgänge, ob Lipoide für das Zustandekommen der Gramschen Färbung verantwortlich zu machen sind. Versuche, die grampositiven Zellen gramfrei zu machen, wurden verschiedentlich unternommen, zuletzt von Deussen (Ztschr. f. Hyg. Bd. 85), dem es aber weder durch längere Behandlung der Zellen mit Alkohol, Aether und lipoidlösenden Mitteln gelang, die untersuchten Zellen gramfrei zu machen, noch durch kürzere Behandlung mit konzentrierter Säure. Erst wenn konzentrierte HCl sehr lange (viele Tage) einwirkte, gelangte Autor zu gramfreien Zellen. Die diesbezüglichen Angaben Deussens können im wesentlichen bestätigt werden, wenn es mir mit konzentrierter HCl auch niemals gelungen ist, in der Kälte der Zellen völlig gramfrei zu machen. Verschiedene Punkte gaben die Veranlassung zu den vorliegenden Untersuchungen. Einmal ging aus der Tatsache hervor, daß beispielsweise Hefezellen erst bei sehr langer Einwirkung von Salzsäure ihre Grampositivität nach Deussen verlieren, daß diejenige Substanz in der Zelle, der diese ihre Grampositivität verdankt, sehr schwer hydrolisierbar ist. Leichter aufspaltbar fand sie Vortragender bei seinen Methoden zur Gewinnung nukleinsäurefreier Zellen, wobei sich zeigte, daß bei Anwendung heißer Salpetersäure die Zellen manchmal völlig gramfrei wurden, manchmal jene Substanz offenbar nur so weit aufgespalten war, daß nurmehr eine blaßviolette Färbung bei der darauffolgenden Gramschen Färbung resultierte, was im wesentlichen von der Temperatur und der Dauer der Einwirkung der Säure abhing. Aus weiteren Untersuchungen des Vortragenden ergab sich, (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. 1922. 73. 337), daß die mit Salpetersäure nukleinsäurefrei gemachten Hefezellen sich mit basischen Farben nicht mehr färben ließen. Eine Ausnahme zeigte sich jedoch, wie damals schon hervorgehoben: Fuchsin, Gentianaviolett und die daher gehörigen basischen Farben färbten auch die nukleinsäurefreien Zellen noch. Bei Verwendung kalter Salpetersäure zur Hydrolyse waren die Zellen noch grampositiv. Daraus ergab sich, daß auch in den nukleinsäurefreien Hefezellen noch eine andere saure Substanz zugegen sein mußte, die die Färbung mit der Fuchsingruppe noch gestattete. Da aber auch eine mehrtägige Behandlung mit lipoidlösenden Mitteln diese Färbung der Fuchsingruppe nicht aufhob, so wurden damals Lipoide ausgeschlossen.

Aus allen diesen Beobachtungen (schwere Hydrolysierbarkeit mit HCl, leichtere Aufspaltbarkeit mit heißer HNO_3, Unlöslichkeit in Aether etc.) ging hervor, daß die Grampositivität der nukleinsäurefreien Hefezellen sowohl als auch ihre Fähigkeit, sich noch mit Fuchsin zu färben, dennoch auf einen Lipoidgehalt der Zellen zurückgeführt werden

1) Siehe Sitzungsberichte d. Berl. Mikrobiol. Ges. vom 2. Juli 1914. Centralbl. f. Bakt. Orig. Abt. I. Ref. 1924.

mußte, nur konnte das hypothetische Lipoid nicht frei, chemisch ungebunden in der Zelle zugegen sein. Es konnte den ganzen Verhältnissen nach zu urteilen nur chemisch an Eiweiß gebunden vorliegen. Dann mußten aber grampositive, nukleinsäurefreie Hefezellen gramfrei werden, wenn man einmal die Lipoideiweißbindung hydrolytisch beispielsweise mit HCl in der Kälte aufspaltete und dem abgespalteten Lipoid gleichzeitig durch Alkoholgegenwart Gelegenheit gab, in Lösung zu gehen, was bei Verwendung von wässeriger HCl bei den bisherigen Versuchen nicht möglich war. Diese Ueberlegung führte in der Tat zum Ziel. Werden kalt mit 10proz. HNO_3 nukleinsäurefrei gemachte, noch grampositive Hefezellausstriche 2—3 Tage in 25proz. Salzsäurealkohol gestellt, mit Wasser abgespült und einmal mit Fuchsinlösung, des weiteren nach Gram gefärbt, so sind die Zellen jetzt absolut gramnegativ. (Demonstration.) Bei der Fuchsinfärbung nehmen die Zellen zwar anfänglich noch etwas Farbe an, die sich aber dadurch als adsorbiert erweist, daß sie durch längeres Abspülen oder Einstellen der Präparate für mehrere Minuten in destilliertes Wasser völlig zurückgeht, die Zelle farblos wird, während bei echter Fuchsinfärbung (chemische Bindung) der normalen oder nukleinsäurefreien Hefezelle diese auch bei dieser Prozedur ihre Fuchsinfärbung behält.

Aus dieser Beobachtung ergab sich zwangsläufig die Methodik zur Isolierung derjenigen Substanz, die für die Grampositivität der Hefezellen verantwortlich zu machen ist. Es wurde zu diesem Zweck 1 kg käufliche Bäckerhefe mit 4 Liter 10proz. Salpetersäure in der Kälte nukleinsäurefrei gemacht und die so gewonnenen Zellen bis zum Verschwinden der sauren Reaktion (Entfernung der Nukleinsäurespaltprodukte) mit destilliertem Wasser gewaschen. Darauf kamen die Zellen für 10 Tage (damit die Aufspaltung und Entfernung des abgespaltenen Lipoids eine möglichst vollständige war), in 25proz. Salzsäurealkohol. Nach Abfiltration des HCl-Alkohols wurde dieser mit NaOH, zuletzt mit Soda neutralisiert und schwach alkalisch gemacht. Vom ausfallenden Kochsalz wurde abfiltriert, der Alkohol abdestilliert, der Rückstand zur Trockne gebracht, und die fein pulverisierte, gelb aussehende Kristallmasse am Rückflußkühler mit heißem Alkohol mehrmals extrahiert, aus welchem sich beim Erkalten gelbe Kristalldrüsen abschieden. Den Rest des Lipoids erhält man nach Verjagen des Alkohols. Werden die Kristalle sowohl als auch der Rückstand mit etwas Wasser auf Objektträger verrieben, ausgestrichen und nach Gram mit Fuchsinnachbehandlung gefärbt, so erkennt man grampositive Kristalle[1]) neben fuchsinrotgefärbten gramnegativen mehr amorphen Bestandteilen[2]) (Demonstration). Die Ausstriche nehmen die Farbe gut an, verhalten sich aber bei Herausnahme aus der Farbe und nachfolgendem Abspülen mit Wasser wie Ausstriche von Fettsubstanzen, indem die Flüssigkeiten sofort restlos ablaufen. Aus der alkoholischen Lösung lassen sich die Lipoide ferner mit alkoholischem Sublimat als Hg-Salz niederschlagen (Demonstration), das seines Hg-Gehaltes wegen zur Prüfung der Gramfärbung nicht mehr geeignet ist. Es liegt also offenbar, ein grampositives und gramnegatives Lipoidgemisch vor, wie das aus dem Grunde auch von Anfang an vermutet wurde, da es nukleinsäure-

1) Büschelförmige Kristalle und Nadeln, die teilweise in einem rechten Winkel zueinander liegen.

2) Die Mengen der einzelnen Komponenten wechseln in verschiedenen Präparaten.

freie, gramnegative Zellen gibt, die ebenfalls noch eine Fuchsinfärbung liefern, aber keine Gramfärbung geben.

Da hiermit nach Isolierung der Lipoide die Hefezellen gramfrei geworden sind, das isolierte Lipoidgemisch außerhalb der Zellen die Gramfärbung gibt, das Lipoid ferner durch einfache Aetherbehandlung nicht entfernbar ist und das restierende basische Hefeeiweiß in der Zelle noch zugegen ist, was einmal dadurch zu beweisen ist, daß sich die so nukleinsäure- und gramfreigemachten Hefezellen nach wie vor, als ob so gut wie nichts mit ihnen vorgenommen worden ist, noch mit sauren Farben (Erythrosin) sehr stark färben, andererseits dieses basische Hefeeiweiß auch durch Behandeln mit NaOH und Fällen mit verdünnter Essigsäure außerhalb der Zelle dargestellt werden kann, so dürfte hiermit bewiesen sein, daß die Gramfärbung der Hefezelle[1]) auf einem Lipoidgehalt derselben beruht und das vorliegende Lipoid sich dort an Eiweiß gebunden vorfindet, für welche Klasse von Verbindungen ich den Namen Lipoproteide vorschlagen möchte. Die genauere Technik, besonders der Isolierung der Lipoide, kann erst in einer ausführlichen Arbeit gegeben werden.

---

37. Grütz (Kiel, Derm. Univ.-Klinik) (siehe Seite 39*):

Ueber Variabilität pathogener Hautpilze.

Ich möchte mir erlauben, Sie auf ein Gebiet zu führen, das von der deutschen Mikrobiologie zu Unrecht sehr stiefmütterlich behandelt wird, zu Unrecht, weil es in den letzten Jahren steigende hygienische und allgemeinpathologische Bedeutung erlangt hat, und weil es eine Fundgrube für Studien gerade auf dem Gebiete der Variabilität darstellt. — ich meine die pathogenen Hyphomyzeten.

Daß die Fadenpilze eine starke Fähigkeit zur Abänderung ihrer Erscheinungsform als Anpassung an veränderte Wachstumsverhältnisse besitzen, ist bekannt. Genauer studiert sind diese Verhältnisse, soweit sie die für die menschliche Pathologie wichtigen Pilze betreffen, aber kaum. Als Erreger von infektiösen Hauterkrankungen teilt man bekanntlich die Fadenpilze in 3 große Gruppen ein: 1) die Favusgruppe, 2) die Trichophyton- und 3) die Mikrosporongruppe. Meine jahrelangen kulturellen Untersuchungen haben einen ungemeinen Formenreichtum an diesen Pilzen an unserem deutschen Material von Dermatomykosen ergeben. Von den 29 wohlcharakterisierten Arten, die Sabouraud, der zuerst Ordnung in das Reich der Dermatophyten hineingebracht hat, unter der Trichophyton-Gruppe beschrieben hat, habe ich allein in Kiel 16 wiedergefunden. Es ist bisher üblich gewesen, diese Pilze als Ektothrix- und Endothrix-Arten voneinander zu trennen. Ich habe durch vergleichende histologische Untersuchungen an Tieren dar-

1) Es liegt sehr wohl im Bereich der Möglichkeit, daß in anderen grampositiven Zellen die Lipoide auch einmal ungebunden vorkommen und durch Aetherbehandlung bereits zu entfernen sind. Auch für manche Hefearten scheint dies zum Teil zuzutreffen.

getan, daß die bisherige Unterscheidung in endotriche und ektotriche Pilze je nach ihrem Wachstum innerhalb oder außerhalb des Haares, nicht haltbar ist, da z. B. für den Menschen anscheinend rein ektotriche Pilze auf Tieren ein völlig typisch endotriches Dasein führen, — und daher durch eine biologisch richtigere ersetzt zu werden verdient. Eine solche wäre nach dem Vorschlage Blochs die Einteilung in humane, für den Parasitismus auf dem Menschen angepaßte, und in tierische, vorwiegend für den Parasitismus auf dem Tier angepaßte Arten. Zwischen beide würde als Uebergangsgruppe die von Sabouraud als Neo-Endothrix bezeichnete Gruppe treten, die nach meinen Erfahrungen klinisch und mykologisch eine gewisse Mittelstellung zwischen den tierischen und humanen Arten einnimmt. Die einzelnen Arten der Gruppe sind nach Sabouraud wohlcharakterisiert und haben bestimmte makroskopische Wuchsformen, an denen man sie, geeignete Nährböden vorausgesetzt, mit Sicherheit zu erkennen vermag. Unter gewissen Umständen kann man aber Pilze züchten, die zu keiner der bekannten Arten passen, sondern anscheinend Zwischenglieder zwischen wohlcharakterisierten Arten bzw. Abarten oder Varianten darstellen. Naturgemäß ist dann die Versuchung, zu glauben, daß man hier „neue Arten" entdeckt habe, sehr groß. Aber wer etwas größere Erfahrungen auf dem Gebiete der Fadenpilze besitzt, der kommt schließlich dazu, sich hinsichtlich dieser „neuen" Arten mit gutem Grunde große Reserve aufzuerlegen. Beobachtungen von Wachstumsabänderungen sind nämlich dann besonders aufschlußreich, wenn sie innerhalb von Verhältnissen erfolgen, in denen man eine gleiche Infektionsquelle mit demselben Erreger bei mehreren Individuen annehmen muß, und wenn dann doch die von verschiedenen Individuen gezüchteten Pilze nicht identisch sind, sondern morphologische Verschiedenheiten aufweisen. Ueber einige außerordentlich interessante Beobachtungen dieser Art, die ich im Laufe jahrelanger Beschäftigung mit den Dermatophyten gemacht habe, möchte ich hier kurz berichten.

Wie soll man die Erscheinung verstehen, wenn in einer Familie 4 Kinder nacheinander an Mikrosporie auf dem behaarten Kopf erkranken und bei der kulturellen Untersuchung unter den genau gleichen Bedingungen, auf genau denselben Nährböden, unter genau den gleichen Temperaturverhältnissen usw., bei zwei Kindern das Mikrosporon Audounini und bei den beiden anderen ein Mikrosporon depauteratum, ein viel feiner und zarter wachsender, eine eigentümliche Form des Pleomorphismus aufweisender Pilz herausgezüchtet wird, den früher W. Fischer als eine besondere Art bei einer Berliner Mikrosporieepidemie beschrieben hat? Da der Infektionsweg hier offenbar so lag, daß zuerst eines der Kinder die Infektion (in der Schule?) erwarb und dann zu Hause auf die anderen Geschwister übertrug, so mußte natürlich hier ein und derselbe Pilz als Erreger erwartet werden. Daß gleichzeitig mehrere Arten, noch dazu von derselben Gruppe, bei demselben Individuum eine Dermatomykose verursachen, habe ich niemals unter vielen Hunderten von Untersuchungen beobachtet, diese theoretische Möglichkeit kann man also wohl ausschließen; vielmehr erscheint es viel zwangloser, anzunehmen, daß hier der krankheitserregende Pilz durch irgendwelche Momente bei den 2 Geschwistern eine Abänderung erfahren hat. Es ist natürlich auch denkbar, daß die Abänderung nur bei einem der beiden Kinder stattgefunden hat und daß der so dauernd veränderte Pilz dann die Infektion bei dem

anderen hervorgerufen hat. Aehnliche Erscheinungen sah ich auch bei an Trichophytie des behaarten Kopfes erkrankten Geschwistern, bei denen eines von drei Kindern das Trichophyton plicatile, eine Neo-Endothrix-Art, also einen Pilz der Uebergangsgruppe, in seinen ziemlich entzündlichen Kopfherden beherbergte, während bei den beiden anderen Kindern aus Schuppen und Haaren der typischen Herde von ganz wenig entzündlicher „Schülertrichophytie" das wohlcharakterisierte Trichophyton crateriforme herausgezüchtet wurde, also ein Pilz, den wir zu den humanen bereits völlig angepaßten Arten rechnen. Auch hier fällt es mir schwer, zu glauben, daß wirklich zwei verschiedene Erreger gleichzeitig in die Familie eingeschleppt worden sind, sondern es scheint mir viel wahrscheinlicher, daß hier eine Mitigierung des Ausgangsstammes vorliegt. Offenbar wirkt bei den Pilzen, die vom Tiere aus auf den Menschen gelangen und zum Parasitismus auf dem Menschen noch nicht angepaßt sind, das menschliche Terrain in einer ganz bestimmten Weise abändernd ein, und einen Ausdruck dieser Abänderung sehen wir in der Veränderung der morphologischen Beschaffenheit der Kulturen; weniger leicht kommt die Abänderung in der mikroskopischen Struktur zur Erkennung, die ja innerhalb sehr weiter Grenzen bei den Fungi imperfecti von einer gewissen Gleichartigkeit, wenn auch bei den Trichophytonpilzen durchaus nicht ganz frei von Unterscheidungsmerkmalen ist, auf die hier indessen nicht eingegangen werden kann. Ein anderes Zeichen der Abänderung der Pilze muß man in der Andersartigkeit der Krankheitserscheinungen sehen, die sie verursachen, wenngleich hier natürlich auch mit gewissen individuellen Verschiedenheiten der Erkrankenden zu rechnen ist. Im allgemeinen kann man aber sagen, daß der Parasitismus der Dermatophyten beim Menschen zu ganz anderen Wechselwirkungen zwischen Parasit und Wirt führt, als das etwa bei bakteriellen Infektionen der Fall ist. Während bei Bakterien die häufige Passage durch den tierischen Organismus ihre krankheitserregende Wirkung meistens steigert, ihre Virulenz erhöht, findet bei den Fadenpilzen beim Menschen meist das Umgekehrte statt, je häufiger sie menschliches Terrain passieren, um so geringer scheint ihre krankheitserregende oder besser entzündungserregende Wirkung zu werden, was praktisch einer Verbesserung ihrer Existenzbedingungen gleichkommt, die natürlich am idealsten sind, wenn der Körper auf ihre Vermehrung möglichst wenig reagiert. Es liegt hierin eine weitgehende Anpassung der Pilze an den menschlichen Organismus, auf dem sie um so ungestörter sich vermehren können, je weniger sie seine Schutzfunktionen herausfordern. Und so sehen wir bei den menschlichen Dermatomykosen die Pilze dann sich am stärksten vermehren, wenn ihre entzündungserregende Wirkung auf ein Minimum herabgesunken ist. Diejenigen Pilze, die den vollkommensten Grad der Anpassung an den Menschen erreicht haben, wie die humane Mikrosporie, der Favus und die rein humanen Trichophytien, sind, unbeschadet ihrer hohen Infektiosität, am wenigsten „virulent", wenn man dieses Wort in dem üblichen Sinne gebraucht.

Die Möglichkeit zu derartig vollkommener Anpassung wird einem verständlich, wenn man das Wachstum dieser Fadenpilze auf Nährböden beobachtet und sieht, wie sie auf geringste Verschiedenheiten derselben mit oft sehr weitgehenden Wachstumsabänderungen reagieren. Ich möchte Ihnen das an einer Reihe von Kulturen demonstrieren. Daß es sich hier wirklich um echte Abänderungen im Sinne von

Variationen handelt, geht daraus hervor, daß derartige künstlich erzeugte Veränderungen auch dann konstant bleiben, wenn man den Pilz wieder unter die Bedingungen seiner ursprünglichen Ausgangskultur zurückversetzt. Das beweist, daß die durch Passage anderer Lebensbedingungen erworbenen Eigenschaften nicht temporär, sondern dauernd den Charakter der Pilze verändert haben. Am sinnfälligsten wird das wohl, wenn ich Ihnen hier die Kulturen des Trichophyton violaceum zeige. Dieser Pilz wächst auf zuckerhaltigen Nährböden mit einer tief blauvioletten Farbe. Durch Züchtung auf eiweißreichen, aber zuckerfreien Nährböden kann man ihn der Fähigkeit zur Farbstoffbildung ziemlich schnell, nämlich schon nach 2—3 Ueberimpfungen, berauben. Er wächst dann völlig farblos, bzw. er sieht grauweiß bis gelbbräunlich-weiß aus, und wenn man dann den Pilz wieder auf zuckerhaltige Nährböden bringt, bildet er meistens keinen Farbstoff mehr. Aber er ist nicht nur in dieser Hinsicht abgeändert, sondern auch in seiner ganzen Vitalität ein anderer geworden, er wächst viel schneller, üppiger und bildet morphologisch ganz andere Kolonien, wie Sie an den demonstrierten Kulturen sehen. Die Verschiedenheit geht so weit, daß manchmal die Abstammung von der Ursprungskultur auch nicht im entferntesten mehr erkennbar ist.

Manchmal kann man bei derartigen künstlichen Abänderungsversuchen des Trich. violaceum Formen herauszüchten, die durchaus dem Trich. glabrum gleichen, das Sabouraud als eine Unterart des Trich. viol. ansieht, oder die dem Trich. fumatum nahekommen, das ich primär bisher 3mal aus Trichophytien der Fingernägel herausgezüchtet habe. — Gerade das Trich. viol. bietet aber noch Gelegenheit zu anderen interessanten Beobachtungen. Nicht nur Abänderungen im Sinne des Verlustes der Farbstoffbildung, die auch als einfache „Degeneration" aufgefaßt werden könnte und z. B. auch bei farbstoffbildenden Bakterien nach längerer Fortzüchtung im Laboratorium eine ziemlich gewöhnliche Erscheinung ist, sondern auch Variation im Sinne des Erwerbes der Farbstoffbildung habe ich bei diesem Pilz beobachtet. Ich war auf diese Erscheinung zuerst aufmerksam geworden bei der kulturellen Untersuchung einer entzündlichen Hauttrichophytie an Rücken und Schultern eines 16jährigen Mädchens, die in den Primärplatten morphologisch sich völlig gleichende gelbweiße und rotviolette Kolonien ergab. Bei der Abimpfung, die von beiden Kolonienarten vorgenommen wurde, ergab sich erstaunlicherweise, daß aus den gelbweißen Kolonien zweierlei Arten von Tochterkolonien entstanden, nämlich gelbweiße und blauviolette, während aus den ursprünglich violetten Kolonien immer wieder nur violette hervorgingen. Die farblosen und farbigen Kolonien ähnelten sich in ihrem morphologischen Aussehen, in ihrem Wachstumstempo, das bei verschiedenen Pilzarten sonst ein ganz verschiedenes ist, ferner in ihrem mikroskopischen Bild so vollständig, daß kein Zweifel daran bestehen konnte, daß hier derselbe Pilz in zwei verschiedenen Varianten vorlag. Aus den farblosen Kolonien entstanden bei den Abimpfungen nicht immer rein farblose Tochterkolonien, sondern eigentümliche Mischkolonien, bei denen farbige und farblose Partien sich in Form von Segmenten scharf gegeneinander abgrenzten. Ich deutete diesen Befund damals so, daß in den farblosen Kolonien einzelne Myzelien mit farbstoffbildender Fähigkeit enthalten waren, die nach Weiterimpfung sich dann ebenso vermehrten wie die farblosen, so daß farbige Kolonieabschnitte neben

oder inmitten von farblosen Kolonien entstanden. Es erschien mir jedoch wichtig, diese Verhältnisse von Einzellkulturen aus zu studieren.

Von künstlichen Kulturen aus wollten mir indessen Einzellkulturen niemals gelingen, da die Sporulation bei künstlichen Violaceumkulturen nur eine sehr spärliche ist oder völlig fehlt. Deshalb verwandte ich direkt vom Menschen stammendes Sporenmaterial von einer Kopftrichophytie mit Trichophyton violaceum, in deren Haaren massenhaft Sporen enthalten waren. Aus dem gut zerkleinerten und vorsichtig zerriebenen menschlichen Ausgangsmaterial gelang es mir, mehrere Einzellkulturen zu gewinnen, die violett wuchsen und immer ebensolche Tochterkolonien ergaben; außerdem gewann ich eine in erster Generation farblos wachsende Kolonie, die ebenfalls von einer einzigen Spore abstammte. Bei weiteren Abimpfungen wuchsen aus ihr farblose Kolonien, innerhalb deren sich blaue Knöpfchen oder blaue Segmente bildeten. Durch Abimpfungen aus den blauen Gebieten der Kolonien konnten dann rein blauviolette Kolonien gezüchtet werden.. Damit erscheint mir für das Trich. violaceum die Variabilität unanfechtbar bewiesen. Dies ist meines Erachtens von großer Bedeutung für die Bewertung einer „epidemiologischen" Erscheinung, die mir bisher nicht recht verständlich war. Während man bisher annahm, daß das Trich. viol. aus anderen Ländern zu uns eingeschleppt wurde, da es in Deutschland meist bei russischen Emigranten, und zwar im allgemeinen höchst selten, gefunden wurde, dagegen in Italien, Rußland, Südamerika in größerer Häufung vorkommt, betrafen die von uns beobachteten Fälle mit einer einzigen Ausnahme durchweg durchaus bodenständige holsteinische Landbewohner, die mit ausländischen Infektionsquellen sicher nicht in Berührung gekommen waren. Ich möchte jetzt glauben, daß das Trich. violaceum und wohl auch andere Formen durch Variation gewissermaßen autochthon entstehen können.

Variierende Pilztypen sehen wir in Kiel besonders häufig zwischen den Formen cerebriforme, plicatile, crateriforme; und es scheint mir, als wenn dies kein Zufall wäre, sondern damit zusammenhinge, daß wir das Material einer überwiegend landwirtschafttreibenden Bevölkerung untersuchen. Die Tierbestände Schleswig-Holsteins sind von Dermatomykosen stark verseucht, und die Uebertragungen der Pilze vom Tier auf die Menschen und von diesen wieder weiter sind sehr häufig. Dies könnte sehr wohl die Tatsache erklären, daß Varianten, die sich auf dem Grenzgebiet zwischen tierischen und humanen Pilzformen bewegen, hier besonders häufig gefunden werden. Es muß hier auch erwähnt werden, daß in Dänemark (nach Sabouraud) das Trich. plicatile, in dem wir gerade eine solche leicht variable Uebergangsart sehen möchten, ebenfalls häufiger vorkommen soll. Es wäre wichtig, wenn die Zusammenhänge zwischen tierischen und menschlichen Dermatomykosen eine weit genauere Bearbeitung erführen. Es ist mir nicht zweifelhaft, daß der wissenschaftliche Gewinn mindestens hinsichtlich der Erkenntnisse in Variabilitätsfragen ein großer sein würde.

Daß auch die Pilze der Favusgruppe die Fähigkeit zur Variation besitzen, darüber belehrte uns folgender Fall. Wir hatten auf der Klinik einen Knaben mit Kopf-Favus liegen, bei dem die Kultur ein Achorion Schönleini mit radiären Randstrahlen und einer gelbweiß bestäubten Oberfläche ergab, das von der typischen Wachstumsart deutlich in der Richtung etwa des Achorion gypseum Bodin abwich, so daß ich zur genaueren Beobachtung des Pilzes zahlreiche Abimpfungen vornahm.

Die mikroskopisch-mykologische Beobachtung bestätigte die Vermutungsdiagnose Achorion gypseum nicht, da wichtige Charakteristika, nämlich die den tierischen Mikrosporon-Arten ähnliche Myzelform und die charakteristische Spindel- und Chlamydosporenbildung fehlten, so daß ich schließlich, da der Pilz mikroskopisch im wesentlichen dem Achorion Schönleini glich, die Bestimmung nur als „atypisches Achorion Schönleini" formulieren konnte. — Neben diesem Favuspatienten lag ein Lupuskranker, der sich von seinem Nachbar mit Favus infizierte und eines Tages typische Favus-Skutula am Arm und Oberschenkel sowie einige herpetische Herde aufwies. Aus diesen Favusherden wurde nun das durchaus typisch wachsende Achorion Schönleini herausgezüchtet, mit seinen wachsartigen, wulstigen, scharfrandigen Kolonien, während der Ursprungsstamm von dem Favusknaben seine Atypie zähe beibehielt, wie die Parallelbeobachtung beider Stämme, die durch Monate hindurch fortgesetzt wurde, lehrte. Die Verschiedenheit dieser beiden Stämme war so evident, daß es für mich außer Zweifel steht, daß auch hier eine Abänderung, etwa im Sinne einer Fluktuation, vorlag, deren tiefere Ursache völlig im Dunkeln liegt und die wir nur als Tatsache registrieren können.

Unsere Kenntnisse über die Variabilitätsvorgänge bei den pathogenen Hyphomyzeten stecken noch in den ersten Anfängen. So viel kann man nach meinen Erfahrungen aber wohl jetzt schon sagen, daß innerhalb der Trichophytongruppe besonders diejenigen Arten, die wir als Uebergangsformen zwischen tierischen und humanen ansehen können, einen besonderen Reichtum an Variationserscheinungen darbieten — daß auch bei den Mikrosporie-Erkrankungen des Menschen und beim echten Favus Abänderungen zu beobachten sind.

Ich hoffe, daß es Ihnen nicht unwillkommen ist, wenn ich Ihnen bei der heutigen Gelegenheit Kulturen von pathogenen Hautpilzen zeige, die teils wegen ihrer schweren Züchtbarkeit, teils wegen ihres exotischen Vorkommens Seltenheitswert beanspruchen. Für diejenigen von Ihnen, die sich mit dem Studium dieser Mikroorganismen befassen, möchte ich erwähnen, daß die Verwendung des bisher für die internationale Pilzbestimmung unentbehrlichen Milieu d'épreuve von Sabouraud jetzt keine unbedingte Notwendigkeit mehr ist, seitdem ich einen vollwertigen Ersatznährboden dafür angegeben habe. Zu diesem Nährboden darf nur ein bestimmtes Maltosepräparat Verwendung finden, nämlich das Nervina-Malz der Firma C. C. Christiansen-Flensburg, und nur eine ganz bestimmte Peptonsorte, nämlich das auch für bakteriologische Zwecke ganz hervorragende Pepton Knoll-Ludwigshafen. Andere Präparate eignen sich für die diagnostische Pilzbestimmung nicht, darüber haben mich unendlich zahlreiche Versuche auf breitester Grundlage belehrt. Die genannten Präparate kommen den französischen Original-Reagentien, auf denen bisher die internationale Pilzbestimmung ruhte, in ihrer Wirkung auf das Pilzwachstum so vollkommen gleich, daß es nunmehr möglich ist, auch mit deutschen Pilznährböden eine zuverlässige Pilzdiagnostik zu treiben. Bezüglich der genaueren Zusammensetzung dieser Nährböden muß ich auf meine frühere Arbeit in der Dermatolog. Wochenschr. 1923. Nr. 26a verweisen.

38. Přibram (Wien) (siehe Seite 39*):

Die Bedeutung der Uebergangsformen für die Systematik der Mikroorganismen.

Es ist eine in der deskriptiven Wissenschaft allgemein beobachtete Tatsache, daß bei der systematischen Einteilung zuerst große, durch auffallende Merkmale charakterisierte Gruppen voneinander geschieden werden, daß bei fortschreitender Erkenntnis die Zahl der Gruppen zunächst vermehrt, dann durch Unterabteilungen erweitert wird, bis schließlich, und davon soll hier die Rede sein, die exakte Beobachtung dazu zwingt, die scharfen Grenzen zwischen den einzelnen Gruppen wieder zu beseitigen und allmähliche Uebergänge herzustellen, welche durch Zwischenglieder die einzelnen Gruppen wieder verbinden (vgl. die Lehre von den Elementen in der Chemie zwischen 2 Gruppen, besonders die Stellung einzelner Elemente, wie Zink). So ist es auch in der Mikrobiologie, Beispiel: B. typhi — B. coli; Uebergangsformen: B. paratyphi A und B. Je eingehender ich mich mit meinen Mitarbeitern mit dem Studium der Mikroorganismen beschäftigte, um so deutlicher wurde mir die Wichtigkeit der Uebergangsformen („Variationszentren") für die Systematik der Bakterien, Hefen und Pilze. Ich studierte folgende Gruppen und fand ganz überraschende Uebergangsformen, die den Zusammenhang klar vor Augen führen: Die Gruppe des B. fluorescens, die des B. coli, die der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie mit ihren Uebergangsformen: B. bipolaria usw. Die beistehende Tafel gibt über die Zusammenhänge Aufschluß, so daß ich mich hier auf das Notwendigste beschränken kann. (Erwähnt sei noch, daß meine Untersuchungen in diesen Gruppen sich auf ein sehr großes Material — bisher weit über 100 Kulturen — erstrecken, übrigens noch nicht abgeschlossen sind.) Die Familie des B. coli zerfällt in zwei Hauptgruppen: B. indolicum und B. anindolicum (Lembke), erstere mit, letztere ohne Indol- und Kreatininbildung.

Jede dieser beiden Hauptgruppen läßt sich (auf Grund des Verhaltens gegenüber Kohlehydraten) nach Jackson in 4 Untergruppen zerlegen: B. communior, B. commune, B. aerogenes, B. acidi lactici (vgl. Monias). Als zweite Hauptgruppe unterscheide ich mit Monias B. anaerogenes Lembke, das aus keinem Kohlehydrat Gas zu bilden vermag. Insoweit Stämme dieser Gruppe Milch koagulieren und Laktose spalten, stehen sie dem Coli nahe, insoweit ihnen die Fermente fehlen, bilden sie den Uebergang zum B. enteritidis und B. paratyphi B. In der Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie fand ich mit Plasaj einen Typus, den ich als echtes B. septic. haemorrh. anspreche und als B. bipolare α bezeichne: geißellos, kein Indol bildend, ohne Gärkraft. Das B. bipolare β, d. h. jene Formen dieser Gruppe, welche nicht mehr ganz typisch sind (z. B. Indol bilden), können atrich sein und stehen dann der ersten Gruppe sehr nahe, oder sie sind monotrich oder oligotrich. Die letzteren sind Uebergangsformen zur polytrichen Gruppe des B. cholerae suum, B. typhi murium, B. paratyphi vitulorum usw., die den direkten Weg zum B. paratyphi B weisen; das B. bipolare γ, welches ebenfalls atriche, monotriche und polytriche Formen aufweist, steht mit seinen atrichen Formen dem B. bipolare α (B. sept. haem.) nahe, von dem es sich durch die fermentativen Eigen-

schaften unterscheidet, mit seinen oligotrichen Individuen lehnt es sich an die Gruppe B. indolicum, also an die Coligruppe an, mit seinen monotrichen Formen an das B. bipolare β. Das B. bipolare α leitet hinüber zu anderen Gruppen, von welchen hier nicht weiter die Rede sein soll (vgl. die nebenstehende Tabelle und die Arbeiten von Plasaj und mir). Das B. paratyphi B, das als Uebergangsform zum B. typhi keiner weiteren Erläuterung bedarf, ist durch eine außerordentlich interessante Uebergangsform, das B. viride Wolf, das mir die Verf. Streling und Elzenberger als B. paratyphi Lodzense während des Krieges einsandten, mit dem B. pyocyaneum verbunden. Das genannte B. viride (Demonstration) ist ein Erreger einer Paratyphusepidemie und hat nach Angabe der Autoren die Eigenschaften eines B. paratyphi neben jenen des B. pyocyaneum; näher kann ich hier nicht darauf eingehen; auch fehlen mir hier noch eigene Untersuchungen. Das B. pyocyaneum wieder ist mit der Gruppe des B. fluorescens verwandt, besonders mit den von Pulay und mir untersuchten B. fluorescens liqufac. und B. putidum (= B. fluoresc. nonlqf.). Diese beiden Kulturen und der Vibrio fluorescens sind durch mutuelle Agglutination mit einem von Zikes als B. fluorescens aureum (in der Tabelle B. aureum) bezeichneten Stamm nahe verwandt, der seinerseits wieder dem B. vulgare (Proteus vulgaris) nahesteht. Der erwähnte Vibrio fluorescens, welcher sowohl als Bakterium wie als Vibrio auftreten kann, zeigt eine gewisse Verwandtschaft (Agglutination) zu Vibrionen (Vibrio proteus und Vibrio saprophiles). Wir haben also hier durch Uebergangsformen bereits eine recht stattliche Tabelle über die Systematik gramnegativer Bakterien gewonnen, welche sich gewiß noch wird erweitern lassen.

Ueber meine Untersuchungen in den Gruppen der grampositiven Bakterien, die noch nicht abgeschlossen sind, will ich heute noch nicht sprechen, wohl aber über die interessanten Uebergangsformen in der Gruppe der Hefen und Pilze:

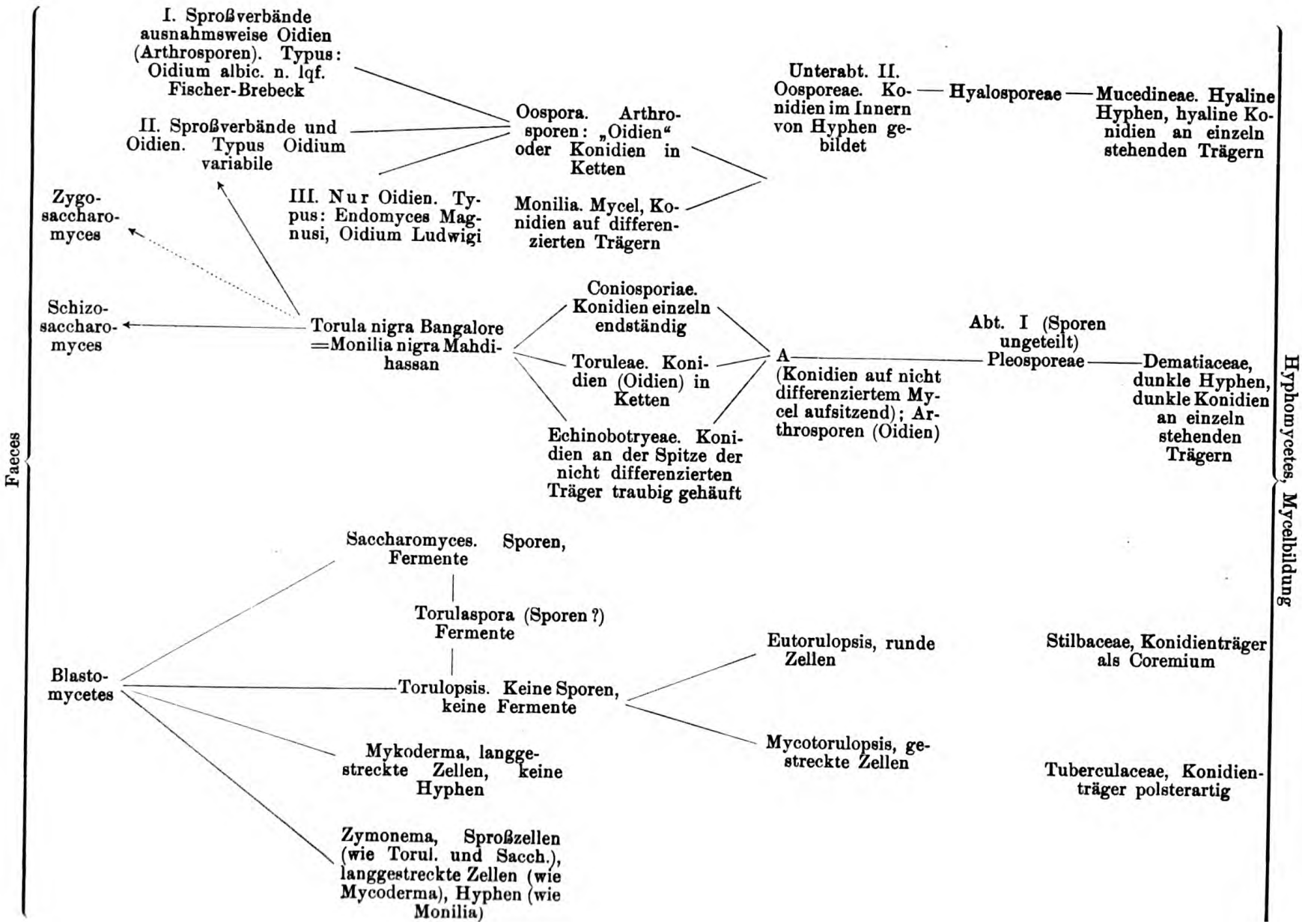
In dieser Gruppe erstrecken sich meine Untersuchungen auf 1) die pathogenen Blastomyceten, welche zum Teil der Familie Torulopsis (sog. Torula der Gärungschemiker), zum Teil der zu den Hyphomyceten leitenden Uebergangsgruppe Zymonema (Gougerot) angehören, zum Teil wieder Uebergangsformen zwischen diesen darstellen, 2) die Gruppe Torulopsis, 3) die schwarzen Hefen, welche zweifellos einen Uebergang zu den Dematiaceen der Hyphenpilze (Hyphomyceten) bilden, selbst aber untereinander allen Uebergängen angehören und zum Teil sogar selbst bald diese, bald jene Form annehmen (Polymorphismus); 4) die Gruppe Oospora (in der medizinischen Literatur „Oidien" genannt. — Ich fand bei den Untersuchungen mit meinen Schülern und Schülerinnen (Sasakawa, Goldlust, Rosenblatt, Konstanta) folgende Zusammenhänge, die aus unseren Originalarbeiten hervorgehen: Die Hefen, der altlateinische Ausdruck „Faeces" wird heute in anderem Sinne gebraucht, entspricht aber am besten dem allgemeinen, nichts präjudizierenden Gattungsnamen, kann man nach der Art ihrer Fortpflanzungsfähigkeit einteilen in Schizomyceten, Zygomyceten, Blastomyceten. Die sporenbildenden Blastomyceten (Sproßpilze) heißen Saccharomyceten, die nicht sporenbildenden, deren Gärungsfähigkeit weit hinter der der Saccharomyceten zurücksteht, Torulopsideen; eine wichtige Uebergangsform zwischen beiden ist Lindners Torulaspora Delbrücki, bei welcher die von Lindner festgestellte Sporenbildung

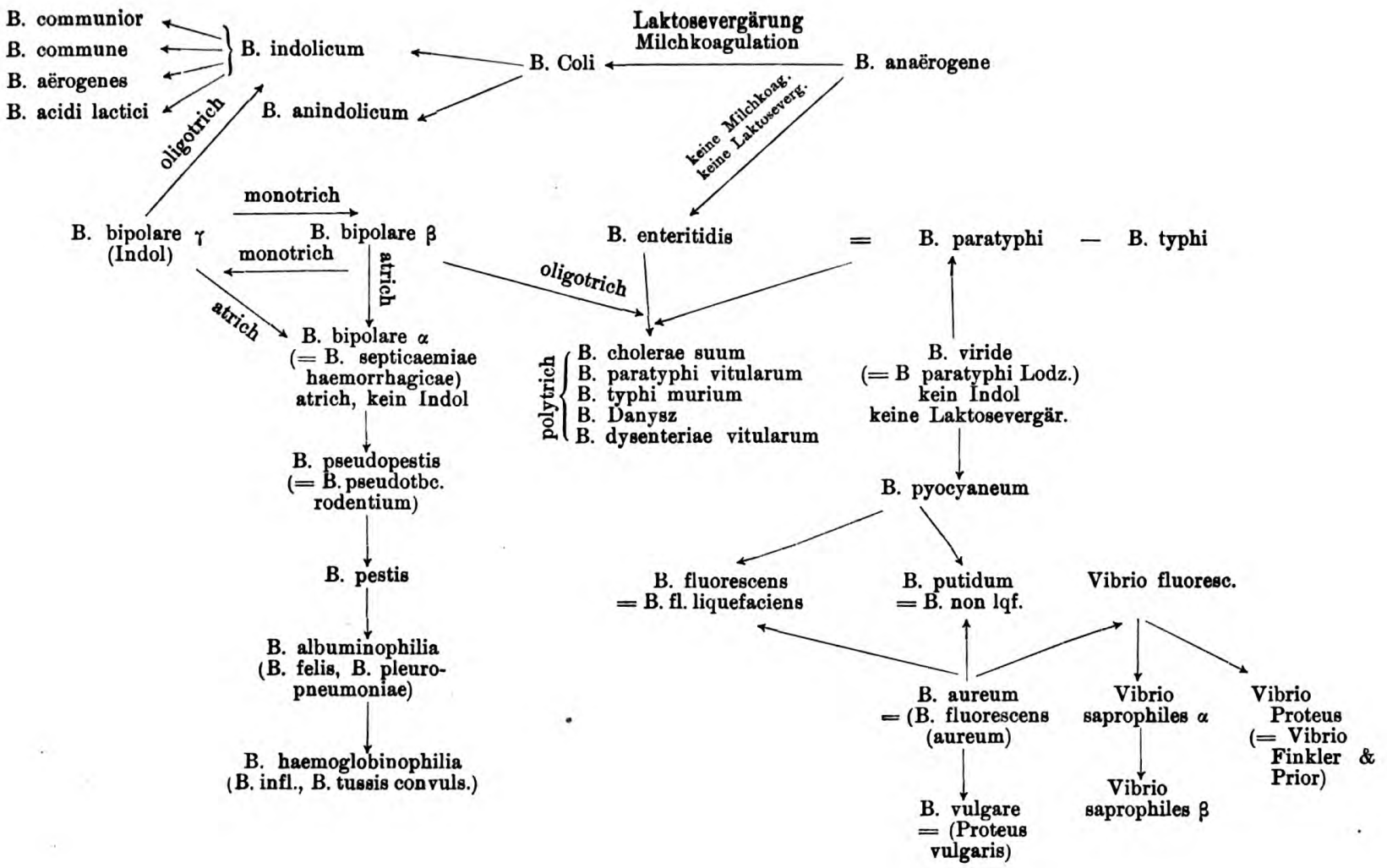
so spärlich ist, daß es mir trotz großer Uebung und Aufmerksamkeit bisher nie gelungen ist, Sporen bei dieser Hefe zu finden, die mit den Saccharomyceten übrigens die kräftige fermentative Wirkung gemein hat. Will teilt die Familie Torulopsis (er nennt sie Torula) ein in Eu- und Mycotorula, welche Namen, da der Name Eutorula in der Botanik bereits vergeben ist, in Eutorulopsis und Mycotorulopsis zu ändern sind. Die einen haben runde Zellen, die anderen gestreckte (Wurstformen) — Uebergangsformen zwischen beiden gibt es recht zahlreiche — die letzteren leiten zur Gruppe Mycoderma hinüber. Zwischen dieser Gruppe und den Hyphomyceten (Monilia) stellt den Uebergang Gougerots Zymonema mit seinen Sproßformen und gleichzeitigen Mycelfäden her, also wieder eine wichtige Uebergangsgruppe. Aber auch auf ganz anderem Wege ist durch Uebergangsformen die Verbindung zwischen Hefen und Pilzen (Hyphomyceten) gegeben: auf dem Wege über die Oosporen. Bei meinen einschlägigen Arbeiten (noch nicht veröffentlicht) fand ich unter den Vertretern dieser Gruppe solche, welche sich ausschließlich durch Arthrosporenbildung, d. h. Zerfall des Mycels, in Oidien vermehren (Typen: Oidium Ludwigi, Endomyces Magnusi)); eine zweite Gruppe, welche neben der Oidienbildung auch Sproßverbände bilden kann, und eine dritte, bei welcher fast nur Sproßverbände gebildet werden und die Oidienbildung nur ausnahmsweise provoziert werden kann, meist aber ganz in den Hintergrund tritt. Für die zweite Gruppe ist der Typus: Oospor variabilis, Monilia variabilis Lindner, für die dritte Oidium albicans non liquefac. Fischer u. Brebeck als Paradigma zu nennen. Während die Sproßzellen bildenden Vertreter der Gruppe Oospora den nicht sporulierenden Hefen (Torulopsis) und mit diesen (Mycotorulopsis) auf dem Wege über die Mycodermata den Monilien näher stehen (es gibt auch Vertreter der Gruppe, welche langgestreckte Zellen, vielleicht auch Mycelfäden bilden), leiten die typischen Oosporaformen als echte Hyphenpilze unmittelbar zu den Hyphomyceten (Mucedineae-Hyalosporae-Oosporeae-Oospora), welchen ja auch die Monilien angehören (Muced.-Hyalosp.-Oosporeae-Monilia), vgl. die nebenstehende Tafel. Die Gruppe Oospora bildet ihrerseits wieder den Uebergang zu der dunkelfarbigen Gruppe Torula (im Sinne der Botaniker), welche ihr vollkommen entspricht, und sich nur durch dunkles Mycel und dunkle Sporen von ihr unterscheidet. Andererseits bildet die Oospora den Uebergang zu den Discomyceten, welche sich ebenfalls durch Arthrosporenbildung vermehren und denen die bekannten Formen Actinomyces[1]), Streptothrix[1]) angehören, ebenso wie zu den durch Arthrosporenbildung sich fortpflanzenden Dermophyten: Trichophyton, Epidermophyton, Mikrosporon, Achorion und Trichosporium, von denen übrigens auch wieder ein direkter Weg zu der Gruppe Mycoderma führt, so daß auch hier der Ring wieder geschlossen wird. — Besonders eingehend habe ich auch die sog. „schwarzen Hefen" studiert, die eine der interessantesten Uebergangsgruppen darstellen, auf welche ich gestoßen bin. In der ganzen Literatur sind nur wenige beschrieben (etwa 7 Arten, von denen einige identisch sind; ich selbst besitze drei in der Literatur nicht beschriebene und von diesen abweichende; die interessanteste ist die mir im März d. J. zugesandte Monilia nigra Mahdihassan

1) Von diesen führt über die säurefesten Vertreter (Cladothrix asteroides) der Weg zu den säurefesten Bakterien: Mycobakterien Lehmann.

(Bangalore) aus Insekten.' Die Kultur, von welcher ich Ihnen mikroskopische Präparate eingestellt habe, bildet einerseits typische Sproßzellen, andererseits (bei anaërober Züchtung sogar ausschließlich) Oidien. Mahdihassan nennt sie „Monilia nigra", fügt aber hinzu: „not the same, as discovered by Brown". Als dunkelfarbige Spezies muß sie botanisch als Dematiacee charakterisiert werden (Charakteristikum: dunkle Hyphen, dunkle Konidien an einzeln stehenden Konidienträgern). Da die Sporen ungeteilt sind, gehört sie zur Abteilung Phaeosporae dieser Gruppe. Da sie Oidien bildet und die Konidien auf nicht differenziertem Mycel aufsitzen, gehört sie zu einer der Unterabteilungen: Coniosporiae, Toruleae oder Echinobotryeae, oder variiert vielmehr in allen dreien, weil sie bald einzelne endständige Sporen bildet, bald wieder an der Spitze gehäufte Konidien abschnürt. Die Oidienbildung steht, wie dies auch bei der Oospora der Fall zu sein pflegt, bei anaërober Züchtung im Vordergrund. Besonderes Interesse bietet diese Kultur deshalb, weil man nicht selten einzelne Glieder sieht, die sich — nach Art der Schizosaccharomyceten — teilen; zuweilen scheint die ganze Zelle in zwei zu zerfallen; wir haben hier wohl einen interessanten Uebergang von den Odien bildenden Formen (Oospora, Dematiaceae) zu den Schizosaccharomyceten. Sieht man eine junge aërobe Kultur unter dem Mikroskop an (Demonstration), so würde man überhaupt meinen, es mit einer Hefe, etwa Sacch. anomalus oder apicatus, zu tun zu haben. Im Gegensatz zu anderen Oidien bildenden Pilzen fällt bei unserer Torula Mahdihassan auf, daß die Teilung nicht immer axial erfolgt, sondern oft im Winkel von 60° zur Achse (Bildung eines Seitenzweiges, oft aber sogar genau senkrecht zur Achse,) wodurch ganz bizarre Formen entstehen. Meine Untersuchungen über diese Kultur sind erst im Beginne, es unterliegt aber keinem Zweifel, daß wir es hier mit einer sehr variabeln und für die Systematik sehr wichtigen Form zu tun haben. Die Oosporaform ähnelt am meisten der Oospora variabilis Lindner, erscheint aber in dieser reinen Form nur bei anaërober Züchtung. Sollte es sich herausstellen, daß jene Zellen, deren Inhalt sich nach Art der Schizosaccharomyceten teilt, Dauerformen (Sporen) darstellen, dann würde der Pilz als Endomyces aufzufassen sein.

Angesichts dieser enormen Variabilität einer Kultur drängt sich die Frage auf, ob denn die Systematik in der üblichen Weise ihre Berechtigung hat. Da will ich vor allem daran erinnern, daß wir es hier mit den sog. fungi imperfecti zu tun haben — nicht nur bei den Pilzen, sondern auch bei den Bakterien, von welchen wir ja nur die vegetativen Formen und die vegetative Vermehrungsform kennen. Eine definitive Einreihung im System, wie es sonst in der Botanik üblich ist, nach der Art der sexuellen Fortpflanzung, ist hier unmöglich, da eine solche nicht bekannt ist, zum Teil überhaupt nicht vorkommen dürfte. Trotzdem hat die systematische Einteilung einen enormen Wert für die Orientierung, für die Beschreibung neuer Arten, für die Differenzierung ähnlicher Formen untereinander und für das Verständnis dessen, was wir sehen. Wir dürfen uns nur durch Namen und Worte nicht irre machen lassen, und wenn wir das eine Mal einen Schizosaccharomyces vor uns haben, das andere Mal eine Oospora, so müssen wir uns dessen bewußt sein, daß die völlig verschiedenen Namen und die völlig getrennte Einreihung im System trotz des identischen Einteilungsgrundes (Vermehrung durch Querteilung) darauf zu-


Faeces
I. Sproßverbände ausnahmsweise Oidien (Arthrosporen). Typus: Oidium albic. n. lqf. Fischer-Brebeck
II. Sproßverbände und Oidien. Typus Oidium variabile
III. Nur Oidien. Typus: Endomyces Magnusi, Oidium Ludwigi
Oospora. Arthrosporen: „Oidien" oder Konidien in Ketten
Monilia. Mycel, Konidien auf differenzierten Trägern
Unterabt. II. Oosporeae. Konidien im Innern von Hyphen gebildet
Hyalosporeae
Mucedineae. Hyaline Hyphen, hyaline Konidien an einzeln stehenden Trägern
Zygosaccharomyces
Schizosaccharomyces
Torula nigra Bangalore =Monilia nigra Mahdihassan
Coniosporiae. Konidien einzeln endständig
Toruleae. Konidien (Oidien) in Ketten
Echinobotryeae. Konidien an der Spitze der nicht differenzierten Träger traubig gehäuft
A (Konidien auf nicht differenziertem Mycel aufsitzend); Arthrosporen (Oidien)
Abt. I (Sporen ungeteilt)
Pleosporeae
Dematiaceae, dunkle Hyphen, dunkle Konidien an einzeln stehenden Trägern
Hyphomycetes, Mycelbildung
Saccharomyces. Sporen, Fermente
Torulaspora (Sporen?) Fermente
Blastomycetes
Torulopsis. Keine Sporen, keine Fermente
Eutorulopsis, runde Zellen
Mycotorulopsis, gestreckte Zellen
Stilbaceae, Konidienträger als Coremium
Tuberculaceae, Konidienträger polsterartig
Mykoderma, langgestreckte Zellen, keine Hyphen
Zymonema, Sproßzellen (wie Torul. und Sacch.), langgestreckte Zellen (wie Mycoderma), Hyphen (wie Monilia)


B. communior
B. commune
B. aërogenes
B. acidi lactici
B. indolicum
B. anindolicum
oligotrich
Laktosevergärung
Milchkoagulation
B. Coli
B. anaërogene
keine Milchkoag.
keine Laktosevergär.
monotrich
B. bipolare γ
(Indol)
B. bipolare β
monotrich
atrich
atrich
oligotrich
B. enteritidis
=
B. paratyphi
—
B. typhi
B. bipolare α
(= B. septicaemiae
haemorrhagicae)
atrich, kein Indol
polytrich
B. cholerae suum
B. paratyphi vitularum
B. typhi murium
B. Danysz
B. dysenteriae vitularum
B. viride
(= B paratyphi Lodz.)
kein Indol
keine Laktosevergär.
B. pseudopestis
(= B. pseudotbc.
rodentium)
B. pyocyaneum
B. pestis
B. fluorescens
= B. fl. liquefaciens
B. putidum
= B. non lqf.
Vibrio fluoresc.
B. albuminophilia
(B. felis, B. pleuro-
pneumoniae)
B. aureum
= (B. fluorescens
(aureum)
Vibrio
saprophiles α
Vibrio
Proteus
(= Vibrio
Finkler &
Prior)
B. haemoglobinophilia
(B. infl., B. tussis convuls.)
B. vulgare
= (Proteus
vulgaris)
Vibrio
saprophiles β

rückzuführen ist, daß wir es hier eben mit vegetativen Formen zu tun haben, die keine definitive Einteilung gewährleisten. Andererseits stellen diese gemeinsamen Eigenschaften gewisser, sonst weit voneinander stehenden Formen und die Variation einer Kultur nach verschiedenen bekannten Formen hin ein gemeinsames Band dar, das jedes starre Einteilungsprinzip durchbrechend, das alte Naturgesetz bestätigt: Natura non facit saltus.

---

39. Ph. Kuhn (Dresden): (siehe Seite 40*):

Weitere Einblicke in die Entwicklung der A-Formen (Pettenkoferiaformen.)

Mit 2 Tafeln.

Bei dem Studium der sogenannten Mutation der Bakterien habe ich zusammen mit Käthe Sternberg, der die technische Durchführung der Versuche oblag, die verschiedenen Formen, die in Kolonien von Bazillen und Vibrionen beobachtet werden, einer Sichtung unterzogen. Die Arbeiten begannen im Anfang des Jahres 1916 und sind zum erstenmal im Sommer 1919 zu Tübingen (7) der Oeffentlichkeit unterbreitet worden.

Ich habe die in den Bakterienkulturen auftretenden Formen in vier Gruppen eingeteilt und die eigentlichen Bakterienformen, die ausgesprochenen Stäbchen- und Kommaformen einschließlich einfacher Fadenbildung, mit B-Formen bezeichnet. In eine zweite Gruppe habe ich starke, nach Giemsa ziemlich dunkel färbbare Fadengebilde mit Verzweigung eingereiht, deren Dicke das Mehrfache der gewöhnlichen Bakterienfäden beträgt. Bei diesen Formen sind eng verschlungene Bakterienfäden die Grundlage. Die Verzweigungen sind nicht echt, sondern kommen dadurch zustande, daß sich einzelne Fäden oder mehrere Fäden zusammen von dem Hauptgebilde seitlich entfernten. Wir nennen diese Formen D-Formen (dendritische Formen). Drittens beobachteten wir kokkenähnliche Formen. Sie entstehen aus den Bakterien, die dabei zugrunde gehen (C-Formen), und endlich beobachteten wir rundliche Gebilde, die oft amöbenähnlich sind, und denen wir daher zunächst die Bezeichnung A-Formen gaben (amöboide Formen). Ich habe sie in Würzburg mit dem Namen Pettenkoferiaformen belegt, auf den ich später noch besonders eingehe. Solcherlei Gebilde sind von zahlreichen Forschern nach Einzelbeobachtungen beschrieben und als „Degenerations"- und „Involutionsformen" bezeichnet worden. Auf ältere Arbeiten hat namentlich Gildemeister (4) aufmerksam gemacht. Besonders haben Almquist (2a) und Löhnis (9b) das Gebiet bearbeitet. Bei meinem heutigen Berichte stelle ich die Ergebnisse über die A-Formen in den Vordergrund, die seit der letzten Tagung der Deutschen Mikrobiologischen Gesellschaft in Würzburg 1922 (9a) gezeitigt worden sind.

Die Formen wachsen als kleinste rundliche Gebilde an oder in den Bakterien zu eckigen oder rundlichen Formen heran (vgl. Abb. 1). Dabei tritt der Zerfall der Bakterien ein, den ich früher an den Vibrionenfäden beschrieben habe (vgl. Abb. 11) und der jetzt Schritt für Schritt auch an einzelnen Vibrionen verfolgt wird. Ein Vibrio, Metschnikoff z. B., in dessen Mitte eine Pettenkoferiaform heranwächst, wird immer dünner und schattenhafter, bis aus der Pettenkoferiaform nur noch zwei gegenüberliegende zarte Striche herausragen, die bei Giemsafärbung ganz mattgrau gefärbt sind.

Diese Formen vermehren sich durch Teilung, die bereits einsetzen kann, wenn von dem Bakterienleib noch Reste zu sehen sind.

Meist sieht man Teilungsformen, ohne daß von dem Bakterienleib noch etwas sichtbar ist. Bei der Teilung wird die Pettenkoferiaform in 2 oder mehr meist ungleiche Stücke der verschiedensten Gestaltung zerlegt. Als Vorbereitung dieses Vorganges erscheinen an den Rändern kleine Vorbuchtungen (vgl. Abb. 2). Es entstehen oft Formen, bei denen sich zwei Ausstülpungen gegenüberliegen, sie erinnern an Zitronen, manchmal auch an das sogenannte Zwiebelmuster auf Meißener Porzellan. (Vgl. Abb. 13 links.) Der Riß durch solche Formen vollzieht sich in der Weise, daß eine Ausbuchtung bei der einen, eine andere bei einer zweiten Teilungsform verbleibt. In vielen großen Formen sieht man bereits mehrere junge Formen durch feine Linien angedeutet. Sie wachsen von einer bestimmten Größe ab auch ohne Zusammenhang mit den Bakterien und können eine stattliche Größe erreichen. Vielfach sieht man in ihnen eine oder mehrere Vakuolen.

Besonders auffallend sind gewisse lichtbrechende, stark färbbare Binnenkörper, welche sich teilen, wobei oft ein Zwischenstück in Gestalt eines feinen Fadens erhalten bleibt und Hantelformen entstehen (vgl. Abb. 3).

Diese Formen zeigen amöboide Bewegung und strecken Fortsätze der verschiedensten Art aus. Man sieht fingerförmige, spießförmige, bandartige Fortsätze. Man sieht diese vielfach besonders auf weichem Agar in Berührung mit Bakterien. (vgl. Abb. 14 und 15). Das wichtigste Ergebnis ist seit der Würzburger Tagung die Feststellung, daß in manchen Kulturen nach gewisser Zeit je 2 Formen miteinander verschmelzen, von denen die eine kleinere im lebenden Präparat kräftiger aussieht und im gefärbten Präparat stark gefärbt ist, während die andere erheblich größer ist und viel heller erscheint (vgl. Ab. 13). Die beiden Formen wachsen miteinander zu erstaunlicher Größe heran. Es entstehen Bilder, welche an die Form eines Luftballons erinnern. (vgl. Abb. 4—10). In der kleineren dunklen Form treten Körnchen verschiedener Größe auf, welche nach Giemsa dunkelblau bis schwarzrot gefärbt erscheinen. Mit dem Wachstum des doppelten Gebildes nehmen diese Körner an Zahl zu, und es entstehen Bilder, welche an die Chlamydozoenpräparate, z. B. bei Trachom, erinnern. Die Luftballonformen wachsen zu großen runden Säcken aus, die zerfallen, wobei die lichtbrechenden Körnchen frei werden.

Man unterscheidet 2 Größenordnungen: einmal sieht man feinere Körnchen, deren Durchmesser kleiner ist als die Breite eines Bakteriums. Sie haben etwa die Größe und das Aussehen der kleineren Babes-Ernstchen Körperchen. Ferner sieht man größere rundliche Körperchen, deren Durchmesser etwa der Breite eines Bakteriums entspricht. Es muß bemerkt werden, daß bei den jüngsten Verschmelzungsformen die dunkleren Gebilde die Größe dieser kleinen Körperchen zeigen. Es besteht also eine gewisse Wahrscheinlichkeit, daß letztere es sind, welche sich mit den größeren blassen Pettenkoferiaformen verbinden.

Aehnliche Bilder sind bereits früher, schon vor vielen Jahrzehnten, von verschiedenen Autoren beschrieben worden. Zuerst von Perty (1852), später von Lankester (1876), worüber Löhnis berichtet hat. Bei den Beschreibungen dieser Gebilde aber werden die Bakterienformen mit ihnen in unklare Beziehungen gebracht. Auch alles, was Löhnis über Konjunktion, Gonidien, Gonidangien, Regenerativkörper, Mikrozysten und Makrozysten, Symplasma und Regenerativeinheiten bei Bakterien sagt, steht mit unseren Ergebnissen nicht in Einklang. Ich behalte mir vor, diese Verknüpfung einzelner Beobachtungen zu unhaltbaren Entwicklungsvorstellungen in einer späteren Arbeit zu behandeln.

Das Wuchern der Pettenkoferiaformen in den Knöpfen der Bakterienkulturen, auf das ich bereits in Würzburg aufmerksam machte, verdient die besondere Aufmerksamkeit aller Forscher, die sich seit Neißer und Massini (12) mit der sogenannten Mutation der Bakterien befassen. Man beobachtet in den Knöpfen eine Fülle von Pettenkoferiaformen in ihren charakteristischen Gestalten. Man sieht sie besonders dann gut, wenn bei der Fixierung einer Bakterienagarkultur ein Knopf nicht im Ganzen am Deckglas haften bleibt, sondern horizontal durchgerissen wird, so daß nur eine Schicht der Knopfmasse haften bleibt (vgl. Abb. 16 und 17).

Die Bildung und Vermehrung der Pettenkoferiaformen verfolgt man am besten auf Agar mit Lithiumzusatz nach Gamaleia (3) (1—3 Proz.) im frischen Zustand oder an der Hand gefärbter Präparate, die nach der Agarmethode vermittels halbstündiger oder stündlicher Ausschnitte gewonnen sind.

Diese Methodik, welche wir in der Münch. med. Wochenschrift 1919, Nr. 46 (7) und in der Berliner klinischen Wochenschrift 1921, Nr. 13 (8), sowie ausführlich in der Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie und für mikroskopische Technik 1921. Bd. 38 (9) veröffentlicht haben, ist kurz folgende:

Aus der mit Bakterien besäten Agarplatte wird zu der Zeit, in der man den Ausstrich untersuchen will, ein Agarquadrat, etwas kleiner als ein Deckglas, mit einem sterilen Messer herausgeschnitten und vorsichtig, ohne zu schieben, auf ein Deckgläschen gelegt, das durch Erhitzen in heißer Metallschale keim- und fettfrei gemacht ist. Man faßt das Deckgläschen samt dem Agarquadrat mit der Pinzette und legt das Agarstückchen auf 2 Glasbänkchen einer Fixierplatte. Der Hohlraum unter dem Agar wird nun vermittelst einer dünn ausgezogenen und am Ende leicht umgebogenen Glaspipette mit der Fixierungsflüssigkeit angefüllt. Wir verwenden meist Bichromatessigsäure (100 ccm aq. dest. 3 g Kal. bichrom., 5 ccm Eisessig). Bei einer Dicke des Agars von 2 mm, welche sich bewährt hat, muß die Fixierungsflüssigkeit 10—15 Min. einwirken. Dann wird sie mit der Pipette abgesaugt und zunächst durch 75proz., dann 50proz. und schließlich 25proz. Alkohol ersetzt in etwa $^1/_2$ Std. Der letzte Alkohol wird gut abgesaugt, und dann kommt die ganze Fixierplatte in eine feuchte Kammer, wo sie eine oder auch besonders bei größeren Kolonien mehrere Stunden verbleibt. Um das Agarstückchen vom Deckglas zu entfernen, faßt man letzteres mit der Pinzette, schiebt die Spitze eines Messers zwischen Glas und Agar und löst diesen mit einem kurzen Ruck nach unten, was leicht gelingt, wenn der Agar nicht zu dünn ist. Das Deckgläschen kommt sofort, da es sehr schnell trocknet, in eine Schale mit destilliertem Wasser, wo es gut gespült wird. Bei Bichromatessigsäurefixierung schaltet man vorher eine 15proz. Alkoholspülung ein, um die letzte Gelbfärbung zu entfernen. Bei Giemsafärbung empfiehlt es sich, noch eine Behandlung mit Natriumthiosulfat vorzunehmen.

Der besondere Vorteil dieser Methode liegt darin, daß man die Bakterien von Beginn des Ausstriches an fixieren und färben kann, lange bevor das Wachstum sichtbar ist. Die Agarquadrate können zu verschiedenen Zeiten herausgeschnitten werden, so daß man einen fortlaufenden Ueberblick über die Entwicklung erhält. So werden schließlich deutliche Kolonien auf das Deckgläschen gebracht, und man erhält ein übersichtliches Bild über das, was sich beim Wachstum der Bakterien abspielt.

Neuerdings werden die Präparate auch so gewonnen, daß die Deckgläschen unmittelbar nach dem Ausstrich der Kultur auf den Agar gelegt und später abgehoben werden. Die Formen wachsen unter dem Agar heran, Serumverunreinigungen von oben sind auch nach langer Zeit ausgeschlossen (Dauer-Klatschpräparate).

Freilich erfordert es Zeit und Geduld, mit diesen Methoden das Geheimnis der A-Formen zu entschleiern; so kann es nötig werden, z. B. je nach der Verfassung des Ausgangsstammes und nach der

Temperatur des Brutofens, daß mit mehreren Schichten auch nachts durchgearbeitet wird, um zu große Zwischenräume bei den Ausschnitten zu vermeiden.

Es sei ausdrücklich betont, daß diese Formen auch auf gewöhnlichem Agar auftreten. Ihre Zahl und Entwicklung ist jedoch sehr vom Nährboden abhängig, insbesondere ist es ein starker Gehalt an Salzen, der ihr Wachstum begünstigt. Außer Lithiumchlorid ist auch Kochsalz zu erwähnen, das ja in der ersten Zeit der bakteriologischen Forschung besonders dem Nährboden von Pestbazillen zugesetzt wurde, um die „Degenerationsformen" dieser Bakterien zu studieren. Ich weise besonders auf die Untersuchungen von Maaßen (10) hin, der die Gamaleiaschen Beobachtungen an Lithiumchloridnährböden aufnahm und eine große Zahl anderer Salze versuchte.

Weiter bieten ihnen Zuckerarten zusagende Nährböden. Es sei daran erinnert, daß Glukosenährböden die Knopfbildung bei Kolonien des Bacterium coli zeitigen, daß nach Reiner Müller (11) Zusatz von Rhamnose zum Nähragar die Knöpfe der Typhusbazillenkolonien hervorrufen, und daß Gildemeister (5) die Raffinose als ein Mittel festgestellt hat, mit dem es gelingt, bei Paratyphuskolonien Knöpfe hervorbrechen zu lassen. Auch Glykokoll fördert die Bildung der Pettenkoferiaformen nach Beobachtungen Loeles in der meiner Leitung unterstehenden Landesstelle für öffentliche Gesundheitspflege zu Dresden.

Sodann ist die Temperatur von Bedeutung. Wir haben die Erfahrung gemacht, daß sie besser bei 22—28° C gedeihen als bei 37° C Diese Eigenschaft muß man besonders beachten, wenn man A-Formen erzielen will. Bringt man zwei dünne Ausstriche von Bakterienkultur, die möglichst gleichartig auf Agar angelegt sind, den einen in einen Brutschrank von 37°, den andern in einen solchen von 28°, so findet man nach 12 Stunden vielleicht den letzteren nur schwach bewachsen, entdeckt aber mit dem Mikroskop viele A-Formen neben Bakterien oder Bakterienfäden, während der erstere zahlreiche Kolonien oder dichten Rasen von Bakterien zeigt, in denen nur dem Kundigen sich hier und da eine A-Form andeutet. Auch die Dicke des Agars ist nicht gleichgültig.

Endlich ist das Auftreten der A-Formen von gewissen klimatischen Bedingungen abhängig, die wir trotz aller Bemühungen noch nicht aufgeklärt haben. Wir werden aber durch bestimmte Beobachtungen immer wieder veranlaßt, die Jahreszeiten und das Wetter als Einflüsse zu beachten.

Nach alledem ist es nicht verwunderlich, daß sich eine immer gültige Vorschrift für die Gewinnung dieser Formen nicht aufstellen läßt und man zahlreiche Versuche machen muß, um Einblick in die gesamte Entwicklung zu erzielen. Es gelingt auch in Brühekulturen mit schwachem Lithiumzusatz ($^1/_{10}$ Proz.) Pettenkoferiaformen in reichlicher Menge zu züchten. Große Pettenkoferia-Anhäufungen auf der Agarplatte erscheinen bei makroskopischer Betrachtung selbst bei sehr günstiger Beleuchtung nur wie ein klarer Ueberzug auf der Platte. Deutlicher sichtbar sind nur die Stellen, wo reichlich Bakterien darunter liegen, diese Stellen sind auch erhaben und trübe. Mikroskopisch betrachtet erscheinen die Formen bei mittlerer Vergrößerung wie klare Tröpfchen.

In der Brühe senken sich die Pettenkoferien zu Boden und reißen die meisten Bakterien mit sich, so daß eine Brühe, die zunächst trüb

erscheint, später oben klar wird mit kräftigem Bodensatz. Lithiumbrühe wird überhaupt nicht trübe oder nur ganz schwach bei reichlicher Einsaat; am Boden ist ein geringer Bodensatz, der auch beim Aufschütteln die Brühe nicht trübt.

In meiner ersten Tübinger Mitteilung im Juni 1919 habe ich mich darauf beschränkt, von den Schädigungen durch die A-Formen zu berichten, welche man den Bakterien unter dem Mikroskop ansehen konnte. Gleichwohl hatten wir damals schon Erfahrungen gemacht, nach denen in den alten Kulturen ein Etwas vorhanden ist, welches das Angehen von frisch auf der Agarplatte ausgestrichenen Bakterien verhindert. Einige unserer ersten Eintragungen legten 1919 folgende Beobachtungen fest:

Wenn wir auf einer Rhamnoseagarplatte von einer Mäusetyphuskultur ausstrichen, so erhielten wir entweder nur ein spärliches oder gar kein Wachstum. Das letztere war der Fall, wenn wir ältere Kulturen benutzten. Ueberstrichen wir solche „steril" gebliebenen Platten mit 24stündiger Brühekultur von Vibrio Metschnikoff, so erzielten wir wiederum kein Wachstum, während eine vorher unberührte gleichaltrige Rhamnoseplatte gutes Wachstum zeigte. Weiter sahen wir u. a., daß von einer Agarplatte mit V. M. gewisse kleine schwache und durchscheinend zarte helle Kolonien bei Verimpfung kleiner Mengen auf gewöhnlichen Agarplatten nicht angingen. Ueberstrichen wir die so vorbeimpften Platten mit frischer Brühekultur vom V. M., so sahen wir entweder nur ein hauchfeines Wachstum oder gar keins, während Kontrollplatten üppige Saat zeigten.

Ich habe eine Veröffentlichung dieser Auffälligkeiten, die uns sofort an die Beobachtungen von Conradi und Kurpjuweit und an das durch die Tagespresse mitgeteilte d'Herellesche Phänomen erinnerten, damals zurückgestellt, um zuvor die Ursache dieser Vernichtung unter dem Mikroskop nachzuweisen. Es ist uns gelungen, mikroskopisch festzustellen, daß das Bakterienwachstum in solchen Fällen durch nichts anderes als durch die Entwicklung der Pettenkoferiaformen verhindert wird. Wir haben also bereits 1919 vor allen anderen Beobachtungen festgestellt, daß das lytische Agens, das die Bakterien vernichtet, in den Bakterienkulturen nachzuweisen ist. Hierüber habe ich bereits in Würzburg berichtet.

Es ist uns weiter bereits 1922 gelungen, aus Lithiumchloridagarkulturen durch Abschwemmung des Rasens bakterienvernichtende Filtrate zu erhalten, während Kontrollversuche mit gewöhnlichen gleichaltrigen Agarkulturen wirksame Filtrate unter gleichen Bedingungen nicht erzielten. Solche Filtrate kann man nach neueren Versuchen bereits von 7stündigen Kulturen in Lithiumchloridbrühe gewinnen. Ich schließe daraus, daß die Entstehung der Pettenkoferiaformen die Bildung des lytischen Agens begünstigt. Der Bakterientod spielt sich mikroskopisch bei Verwendung dieser Filtrate ebenso ab, wie wir es bei der Verwendung alter Kulturmasse zur Vorbehandlung von Agarplatten gesehen haben: die Pettenkoferiaformen verhindern die Entfaltung der Bakterien. Es ist bisher trotz zahlreicher Versuche nicht möglich gewesen, alle Verhältnisse zu ergründen, welche die Bildung des lytischen Agens begünstigen.

Ich stehe auch heute noch auf dem Standpunkt, den ich bereits 1919 vertreten habe, daß es sich bei diesen Formen entweder um Entwicklungsformen der Bakterien handelt, oder daß es besondere Lebewesen

sind, welche mit den Bakterien in einer Art von Symbiose zusammenleben.

Sind die Bedingungen für die Pettenkoferiaformen günstig, so bildet sich für die Bakterien eine societas leonina heraus. Aber auch dann, wenn die Pettenkoferiaformen auf dem günstigsten Nährboden wuchern, bleiben dazwischen noch immer wohlerhaltene vermehrungsfähige Bakterien zurück, und es gelingt in solchen Fällen bei der Ueberimpfung von Lithiumagarkulturen auf gewöhnlichen Nährböden Bakterienkulturen ohne besondere Vermehrung der Pettenkoferiaformen zu erhalten.

Sehr fesselnd ist die Beobachtung, die Loele zuerst machte, daß von einer Bakterienkultur sich Einzelstämme abspalten lassen, die bis zu einem gewissen Grade gegen das Auftreten von A-Formen auf passendem Nährboden gefeit sind. Aus Glykokollbrühe z. B. lassen sich auch stets Metschnikoffvibrionen gewinnen, bei denen man nur ganz bescheidene A-Formen wachsen sieht. Diese Tatsache erinnert an die Feststellung von d'Herelle und anderen, daß es Bakterien gibt, welche gegen die Wirkung des lytischen Agens „fest" bleiben.

Die Annahme, daß es sich um Entwicklungsformen der Bakterien handelt, hat gewisse Schwierigkeiten. Vor allem steht die Erfahrung im Wege, daß es bisher trotz vieler Bemühungen nicht gelungen ist, die Rückführung der Pettenkoferiaformen in B-Formen zu beobachten, denn ich betone ausdrücklich, daß die Erzielung von gewöhnlichen Agarkulturen durch Abstreichen von der Lithiumagarkultur kein Beweis für die Entwicklung der B-Formen aus den Pettenkoferiaformen ist.

Hier können nur sorgfältige Beobachtungen unter dem Mikroskop an lebenden Präparaten zur Entscheidung herangezogen werden, und diese sind bisher völlig ergebnislos verlaufen. Bei der Verfolgung des Gedankens, daß ein Lebewesen eigener Art in der Gestalt der Pettenkoferiaformen vorliegt, fallen alle Schwierigkeiten fort. Es wäre denkbar, daß die Pettenkoferiaform in Gestalt feinster Sporen das Bakterium befällt, auf seine Kosten heranwächst und sich durch Teilung vermehrt. Bei den Luftballonformen muß man an geschlechtliche Formen denken, welche miteinander eine Verbindung eingehen, und aus denen sich wieder die kleinsten Anfangsformen entwickeln. Weitere Untersuchungen werden die Entscheidung bringen.

Da es nach all unseren Beobachtungen nicht zweifelhaft war, daß die Vermehrungsfähigkeit und das Vergehen eines Bakterienstammes von dem Wachstum der A-Formen abhängig ist, die sich in ihnen entwickeln, so drängte sich mir der Gedanke auf, dem ich in Würzburg Ausdruck gab, daß diese Formen die Rolle spielen, die Pettenkofer (14) seinem hypothetischen Substrat Y zuerteilte.

Er nahm an, daß dieses durch Ort und Zeit zu dem spezifischen Krankheitskeim, z. B. der Cholera, hinzugeliefert werden müsse, und bezeichnete das daraus hervorgehende Produkt, das eigentliche Choleragift mit Z. Er schloß weiter, daß auch Y organischer Natur sei: „die Natur von X, Y und Z ist vorläufig noch unbekannt, aber man darf mit einer an Gewißheit grenzenden wissenschaftlichen Wahrscheinlichkeit annehmen, daß alle drei organischer Natur sind, und daß wenigstens X ein organisierter Keim oder Körper ist. Die Entdeckungen über die Polymorphie niedriger Gebilde zeichnen im allgemeinen auch den Weg vor, den die Untersuchungen über den Choleraprozeß einzuschlagen haben."

Auch folgender Satz Pettenkofers klingt wie eine Prophezeiung der A-Formen: „Die spezifische Natur (Qualität) von Z wird durch

den spezifischen Keim X, und die Menge (Quantität) von Z durch die Menge des Substrates Y bestimmt."

Ich glaube, daß durch die A-Formen der lang gesuchte Weg zur Verbindung der Anschauung der beiden Meister Koch und Pettenkofer gefunden ist. Zu Ehren des großen Hygienikers benannte ich die von uns erforschten A-Formen: „Pettenkoferiaformen".

In welcher Weise das Zusammenwirken der Bakterien und der Pettenkoferia-Formen einerseits die Häufigkeit, andererseits die Schwere der Infektion bedingt, bleibt weiteren Forschungen vorbehalten.

Pettenkofer vertrat bezüglich der Cholera folgende Anschauung: „In den Orten Indiens, wo diese Krankheit endemisch ist, muß Z zu verschiedenen Zeiten in verschiedener Menge vorhanden angenommen werden, so daß einmal der stationäre Cholerakeim X keine oder nur wenige Erkrankungen zu verursachen vermag, und dann wieder in einer Menge, in der er als epidemisch verbreitetes Gift wirkt. Die Menge von Z hängt — die Gegenwart von X vorausgesetzt — zunächst von der Menge von Y, und die Menge von Y von den örtlichen und zeitlichen Verhältnissen ab."

„Die Tatsachen gestatten wohl die Annahme, daß sich X im menschlichen Körper, z. B. im Darme, eine Zeit lang ernähren und vielleicht beträchtlich vermehren könne, aber der menschliche Körper ist im Cholerafall nur der Schauplatz der Wirkungen von Z, und kann für sich ohne Y auch in Berührung mit X nie Z erzeugen."

Wie ich bereits in Würzburg berichtete, darf man nicht ohne weiteres annehmen, daß die Pettenkoferien die Wirkung der Bakterien, beeinträchtigen, denn wir hatten festgestellt, daß in einem mit Bakterien infizierten Körper sowohl durch sichtbare Pettenkoferien wie durch das filtrierbare Agens Verschlimmerungen hervorgerufen werden können. Namentlich hatten wir das Auftreten von Lähmungen beobachtet. Unsere Versuche hatten wir am Mäusetyphus vorgenommen. Inzwischen hat Walter Seiffert (17) berichtet, daß ihm etwa 100 Mäuse zugrunde gegangen sind, die er mit Mäusetyphusbazillen und einem Lysat behandelte, das diese Bazillen auf der Platte restlos löste. Auch nicht ein einziges der mit Lysat behandelten Tiere überlebte die Kontrolltiere, ein Teil starb sogar 1—2 Tage eher.

Wir vermögen heute bereits zu erklären, daß bei Bazillen und bei Vibrionen sich stets Pettenkoferiaformen bilden. Wir haben sie festgestellt bei Typhusbazillen, mit denen wir in den ersten Jahren ausschließlich arbeiteten, bei Ruhrbazillen, bei Bact. coli, bei Diphtheriebazillen, bei Milzbrandbazillen u. a. Die Prüfung der Frage, wie weit die Vermehrungs- und Verbreitungsfähigkeit der Bakterien durch die Pettenkoferiaformen beeinflußt wird, ist noch lange nicht abgeschlossen. Es muß noch sorgfältig erforscht werden, wie die Wirkungen des Z zustande kommen. Es ist wahrscheinlich, daß Pettenkofer mit folgendem Satz recht hat: „Weder X noch Y für sich sind imstande, Anfälle von asiatischer Cholera zu verursachen, sondern nur Z." Die Bildung des Pettenkoferschen Z ist nach unseren Arbeiten kein einfacher Vorgang.

Auch die Ergebnisse d'Herelles und seiner Nachfolger sind nur ein kleiner Ausschnitt des Gesamtproblems.

Ich schließe mit der Forderung, daß ein jeder, der sich mit Studien über Variabilität der Bakterien, insbesondere mit der sogenannten Mutation befaßt, sich an der Hand eigener Studien nach den von uns angegebenen Methoden auch mit den Pettenkoferiaformen auseinandersetzen muß. Das gleiche gilt für die d'Herelleforschung.

Die Mikrophotogramme 1, 2, 16, 17 sind durch Herrn Prof. Dr. Luther, die übrigen durch Frl. Sternberg, angefertigt. Herrn

Luther sowie der Gesellschaft der Förderer und Freunde der Technischen Hochschule, Dresden, welche die Arbeiten durch Gewährung von Mitteln wesentlich unterstützte, sei an dieser Stelle mein besonderer Dank ausgesprochen.

Schrifttum.

1) Bärthlein, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 40. 1912. — 2) Conradi und Kurpjuweit, Münch. med. Woch. 108. Nr. 37, 45, 46. — 2a) Almquist, Wuchsformen, Fruktifikation und Variation der Typhusbakterien. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten. Bd. 83. 1917. — 3) Gamaleia, N., Elemente der allgemeinen Bakteriologie. Berlin, August Hirschwald, 1902. — 4) Gildemeister, Berliner klinische Woch. 1921. Nr. 46. — 5) Ders., Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 45. 1913. — 6) Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1921. — 7) Kuhn, Ph., Münch. med. Woch. 1919. Nr. 46; 1920. Nr. 21. — 8) Ders., Berl. klin. Woch. 1921. Nr. 13. — 9) Ders. u. Sternberg, K., Ztschr. f. wissensch. Mikroskopie u. f. mikr. Technik. Bd. 38. 1921. — 9a) Ders., Centralbl. f. Bakt. usw. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. — 9b) Löhnis, F., Zur Morphologie und Biologie der Bakterien. Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 56. 1922. H. 23/24. — 10) Maaßen, Arbeiten a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 21. 1904. — 11) Müller, Reiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. 58. 1911. — 12) Neisser und Massini, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beiheft 1906. — 13) Otto u. Munter, Dtsch. med. Woch. 1921. Nr. 52. — 14) Pettenkofer, Boden und Grundwasser in ihren Beziehungen zu Cholera u. Typhus. München 1869 (R. Oldenbourg). — 15) Platz, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. Bd. 95. 1922. — 16) Seiffert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. — 17) Ders., Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie. I. T. Orig. Bd. 37. — 18) Twort, Lancet 1915. — 19) Löhnis, Centralbl. f. Bakt. usw. Abt. II. Bd. 56. 1922. — 20) Gotschlich Handb. d. pathog. Mikroorganismen v. W. Kolle u. A. Wassermann.

Ueber die Arbeiten d'Herelles und seiner Nachfolger unterrichtet u. a. das Literaturverzeichnis der Arbeit von Otto, Munter, Winkler, Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.-Krankh. Bd. 96. 1911.

Erläuterung der Abbildungen.

Tafel I.

Fig. 1. Vibrio Metschn. Kultur in Glykokoll-Brühe. 12std. 37°.
Vibrionen mit anhaftenden jungen Pettenkoferia-Formen.
Ausstrich. Färbung: Fuchsin. Vergrößerung: 1800.

Fig. 2. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 6std. 28°.
Pettenkoferia-Formen in der Teilung. Die Haufen entstammen je einem Vibrio.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Fig. 3. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 36std. 28°.
Zahlreiche Pettenkoferia-Formen mit Binnenkörpern.
Dauerklatschpräparat. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 667.

Fig. 4. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 8std. 28°.
Eine kleine dunkle Form liegt an einer größeren hellen Form.
Beginn der „Luftballonform".
Dauerklatschpräparat. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 667.

Fig. 5. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 16std. 28°.
Dunkle und helle Pettenkoferien bilden „Luftballonformen"; eine zerfallende Form ist dabei, in der man deutliche Größenunterschiede der Körnchen sieht.
Dauerklatschpräparat. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 667.

Fig. 6. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 18std. 28°.
Man sieht neben einzelnen schwach gefärbten Vibrionen eine Riesenform; ferner eine in Körnchen zerfallende Form, deren Umrisse noch schwach zu erkennen sind. Außerdem Luftballonformen.
Dauerklatschpräparat. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 667.

Fig. 7. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 18std. 28°.
Besonders große und schöne Luftballonformen. An der einen Form sieht man, daß die Körnchenentwicklung in dem dunkel gefärbten Teil beginnt.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Fig. 8. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 18std. 28°.
Aus der mittelsten Form geht hervor, daß die Körnchenentwicklung sich

schließlich auf das ganze Gebilde erstreckt, welches zum Zerfall kommt. Nur die Körnchen bleiben zurück.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Fig. 9. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 24std. 28°.
Aus der Gruppierung der Körnchenhaufen ist noch die Form zu erkennen, in der sie lagen.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Fig. 10. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 24std. 28°.
An Stelle der Formen ist nur noch ein großer Haufen von Körnchen zu sehen.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Tafel II.

Fig. 11. Vibrio Metschn. Kultur auf gewöhnlichem 3proz. Agar. 6std. bei Zimmertemperatur.
Die Vibrionenfäden sind mit dem Entstehen der Pettenkoferia-Formen so vernichtet, daß sie stellenweise nur noch wie Spinnwebfäden zu sehen sind.
Agarverfahren. Färbung: Fuchsin. Vergrößerung: 800.

Fig. 12. Vibrio Metschn. Kultur auf gewöhnlichem 3proz. Agar. 4täg. Kultur bei Zimmertemperatur.
Man sieht eine Pettenkoferia-Form derselben Art und Größe, wie sie auf Lithium-Agar schon nach 24 Std. auftreten. Eine noch deutlich zu erkennende Vibrionenkolonie ist durchsetzt von Pettenkoferia-Formen.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 800.

Fig. 13. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Agar. 4std. 28°.
Kleine Ausläufer einer mittleren Pettenkoferia-Form. Die andere Form zeigt wieder ein Zusammenliegen einer hellen und einer dunklen Form.
Agarverfahren. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 1000.

Fig. 14 u. 15. Vibrio Metschn. Kultur auf Lithium-Gelatine. 2täg. Zimmertemp.
Man sieht, wie die Pettenkoferia-Formen auf weichem Nährboden Ausläufer ausstrecken, die oft mit Bakterien in Berührung stehen.
Klatschpräparat. Färbung: Methylenblau. Vergrößerung: 1000.

Fig. 16. Eine Kolonie einer 6—7 Wochen alten Kultur von Vibrio Metschn. auf 3proz. gewöhnlichem Agar. Färbung: Giemsa. Vergrößerung: 100.
In der Kolonie haben sich Knöpfe gebildet. Das Präparat wurde mit der Agarfixierungsmethode gewonnen, die Kolonie wurde im ganzen fixiert, nur der untere Teil des einen Knopfes riß ab, man sieht in dieser hellen Stelle in das Innere des Knopfes und erkennt in:

Fig. 17 dieselbe Stelle in starker Vergrößerung, welche zeigt, daß der Knopf eine Anhäufung von Pettenkoferia-Formen birgt.
Vergrößerung: 470.

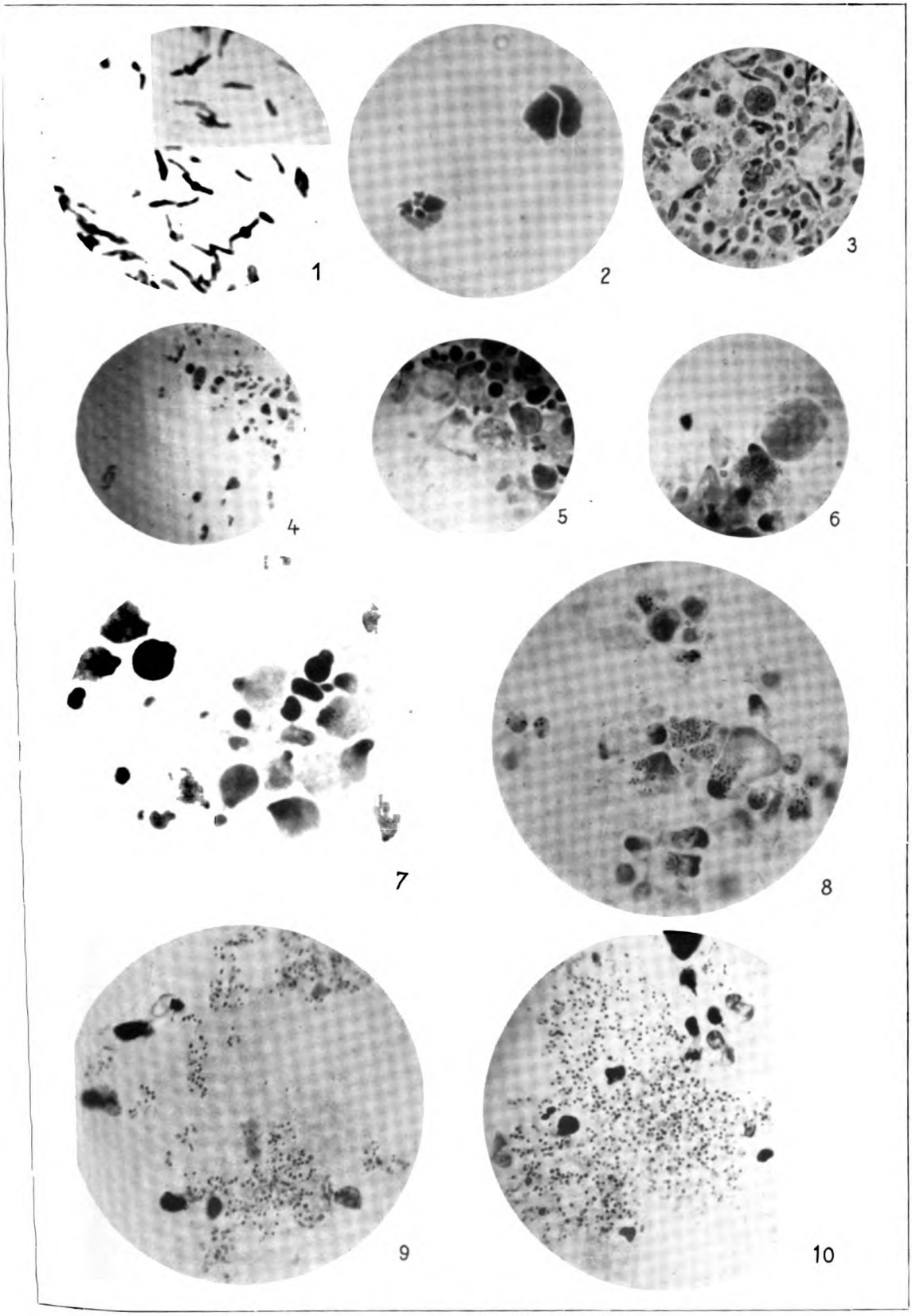
---

40. E. Seligmann (Berlin) (siehe Seite 43*):

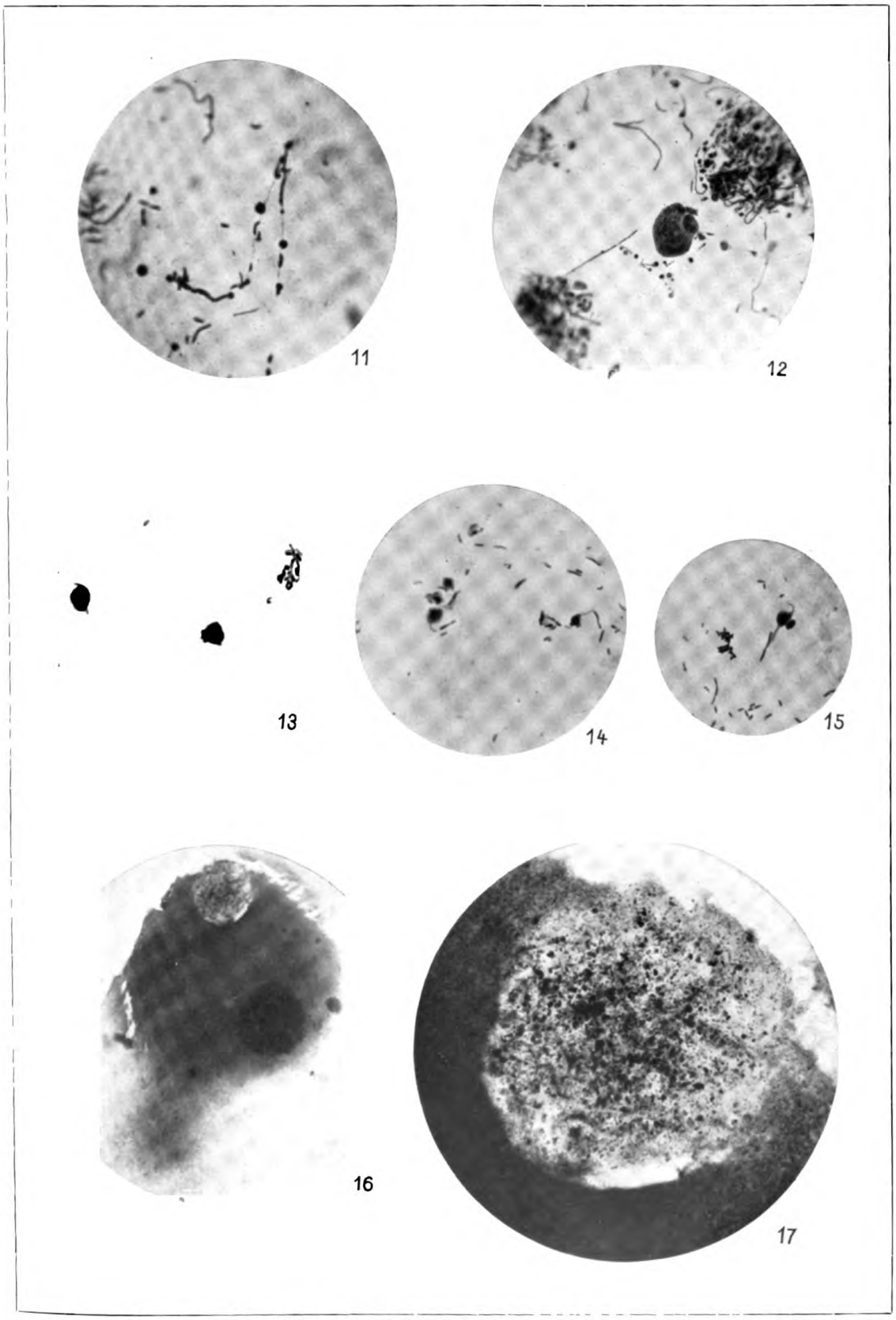
Neues aus der Enteritisgruppe.

1910 brachten Sobernheim und ich „Beiträge zur Biologie der Enteritisbakterien“[1]) an die Oeffentlichkeit, die den Nachweis der biologischen Variabilität dieser Bakteriengruppe führten und zum Ausgangspunkt zahlreicher Untersuchungen anderer Autoren auf dem Gebiete der Bakterienvariation wurden. In den folgenden Jahren konnten wir über den Fortgang unserer Untersuchungen vor diesem Forum berichten[2]) und mitteilen, wie nicht nur das kulturelle Verhalten und die Agglutinabilität, sondern auch das antigene Vermögen einzelner Stämme Entwicklungen durchmachte, die in ihrer Gesamtheit so weitgehend waren, daß sie die Annahme einer Artenumwandlung gerechtfertigt erscheinen ließen. Einige Jahre später beobachtete ich in Gemeinschaft mit Loewenthal[3]) einen Paratyphusbazillus, dessen Varianten neben

1) Sobernheim u. Seligmann, Dtsche med. Woch. 1910. Nr. 8; Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 6. S. 401. Bd. 7. S. 342 (1910).
2) Dieselben, Centralbl. f. Bakt. Ref. 50 (Beiheft). S. 134 (1911).
3) Seligmann u. Löwenthal, Berl. klin. Woch. 1913. Nr. 6.



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

agglutinatorischer Veränderung einen völligen Verlust des Gasbildungsvermögens aufwiesen. Schon damals wiesen wir darauf hin, daß ein gleicher Verlust bei echten Gärtner-Bazillen den Phänotypus eines Typhusbazillus erzeugen würde, wenn es sich um einen der zahlreichen Gärtner-Stämme handelte, die auf Typhus- und Gärtner-Serum in gleicher Weise ansprechen und auch antigen den gleichen Doppelcharakter der Rezeptoren aufweisen.

Vor einigen Monaten konnten wir nunmehr eine entsprechende Beobachtung machen. Bei der Durchprüfung unserer Sammlung stellten wir fest, daß 2 unserer alten Laboratoriumsstämme, nämlich Gärtner J und Ratte II, ihr Gasbildungsvermögen eingebüßt hatten. Zahlreiche Tochterkulturen dieser beiden Stämme zeigten das gleiche Verhalten bei sonst typischen biochemischen Eigenschaften. Eine der Tochterkulturen (J^3) diente zum Ausgangspunkt der folgenden systematischen Untersuchungen. Bei vielfachen, täglich wiederholten oder in Abständen vorgenommenen Ueberimpfungen blieb das Fehlen der Gasbildung aus Traubenzucker konstant. Da in Lackmusmolke dieser Stamm nach der anfänglichen Säurebildung z. Zt. keine Alkaliproduktion zeigt, gleicht er kulturell vollkommen einem echten Typhusbazillus. Sein agglutinatorisches und antigenes Verhalten wurde in Reihenversuchen neben einem unveränderten, alten Gärtner-Stamm (13,4) und zwei frisch isolierten Typhusstämmen (9103 und 7322) geprüft. Er zeigte sich gut agglutinabel für Gärtner-Serum (Tabelle 1) und fiel in groben Flocken

Tabelle I.

	Gärtnerserum (Greifswald)	Typhusserum (9103)
J_3	16 000	4 000
13,4	24 000	2 000
9103	1 000	16 000
7322	0	16 000

aus; von altem Typhusserum, das an Wirkungskraft eingebüßt hatte und wahrscheinlich durch Vorbehandlung mit erhitzten Kulturen gewonnen war, wurde er nicht beeinflußt; von einem frisch hergestellten, mit lebenden Kulturen erzeugten Typhusserum (9103) wurde er ebenfalls grob ausgeflockt, aber nicht bis zur Titergrenze $\left(\frac{4000}{16\,000}\right)$. Da es echte Typhen gibt, die von Gärtner-Serum höher als von Typhusserum agglutiniert werden, sprach dies Verhalten noch nicht gegen die Typhusnatur des J_3-Stammes.

Nunmehr wurde durch Vorbehandlung mit lebenden Kulturen am Kaninchen ein agglutinierendes J_3-Serum erzeugt. Das Serum hatte für den homologen Stamm einen Titer von 1:24000, für echte Gärtner-Stämme einen Titer, der zwischen 0 und 16000 lag, und agglutinierte den Typhus 7322 bis 1:60000, den Typhus 9103 bis 1:100000; andere Typhusstämme fast durchweg höher als Gärtner-Kulturen. Später sank sein Agglutinationsvermögen für alle Stämme etwas ab. Durch den Ausfall dieser Agglutinationsversuche war die Wahrscheinlichkeit, daß der J_3-Stamm ein echter Typhus sei, erheblich gewachsen (Tabelle 2).

Die Anwendung des Castellanischen Versuches und der von Weil und Felix eingeführten Methode der Rezeptorenanalyse bot weitere Möglichkeiten der Klärung, zumal die Benutzung dieser Me-

Tabelle II.

J_3-Serum.

J_3	24 000	Gärtner 1	1000	Typhus 1	0
13,4	16 000	„ 2	0	„ 2	32 000
9103	100 000	„ 3	8000	„ 3	60 000
7322	60 000	„ 4	4000	„ 4	32 000

thoden gerade in der Enteritisgruppe in letzter Zeit mit Erfolg versucht worden ist [Literatur siehe bei Felix[1])]. Differenzen des Bindungsvermögens für Agglutinine, Differenzierung labiler und stabiler Rezeptoren, labilotroper und stabilotroper Antikörper konnten uns weiter führen. Nach den Untersuchungen von Weil und Felix sind die thermostabilen bindenden Gruppen (Rezeptoren) bei Typhus- und Gärtner-Bazillen identisch, dagegen die thermolabilen Rezeptoren verschieden. Die stabilen Rezeptoren erzeugen feinflockende, stabilotrope Agglutinine, die labilen grobflockende, labilotrope. Nach Gruschka[2]) soll der Castellanische Versuch auch im Komplex Typhus-Gärtner die Entfernung der heterologen Agglutinine ermöglichen und damit die Differenzierung gestatten. Treffen all diese Angaben zu, so mußte es mit Leichtigkeit gelingen, den J_3 als Typhus oder als erheblich modifizierten Gärtner-Stamm zu identifizieren.

Zunächst die Form der Ausflockung: Bei der J_3-Kultur tritt die Flockung gewöhnlich in groben Partikeln ein, sowohl mit J_3-Serum wie in den stärkeren Konzentrationen des Typhusserums; in schwächeren Konzentrationen von Typhusserum wird die Zwischenflüssigkeit nicht völlig klar, die Körnchenbildung des Agglutinats gleichwohl verfeinert. Der 13,4-Stamm verhält sich ebenso. Typhusstämme zeigen in J_3-Serum wie in Typhusserum ein Gemisch grober und feiner Flocken bis in die letzten Verdünnungen bei nicht immer (7322) völlig klarer Zwischenflüssigkeit.

Hitzeresistenz der Rezeptoren: 5 Minuten auf 100° erhitzte J_3-Kulturen werden von J_3-Serum erheblich schwächer agglutiniert $\left(\frac{1000—2000}{16\,000}\right)$; von 9103 (Typhus)-Serum werden sie überhaupt nicht mehr agglutiniert. 5 Minuten auf 100° erhitzte 9103-Kulturen werden von J_3-Serum unvollkommen in quantitativ abgeschwächter Form $\left(\frac{4000}{16\,000}\right)$ agglutiniert, von 9103-Serum in der gleichen Weise $\left(\frac{4000}{16\,000}\right)$.

Die Zwischenflüssigkeit des Agglutinats ist bei den erhitzten Kulturen beider Stämme nicht klar.

Nach diesen Ergebnissen müßte man im Sinne von Weil und seinen Mitarbeitern annehmen: J_3 besitzt einen eigenen (neuerworbenen?) stabilen Rezeptor, ferner einen verkümmerten stabilen Typhusrezeptor, der zwar noch antigen im Tierkörper wirksam ist, dagegen keine Neigung zur Ausflockung in vitro zeigt. Der Typhus besitzt einen gut ausgebildeten, stabilen Rezeptor, der mit dem verkümmerten von J_3 identisch ist. Beide Stämme verfügen über labile Rezeptoren, die weitgehend übereinstimmen. Dies Verhalten entspricht nicht der Regel,

1) Felix, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 39. S. 127 (1924).
2) Gruschka, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 35. S. 97 (1923).

wie sie Weil und Felix, Gruschka, Fürth[1]) gefunden haben; auch die Form der Flockenbildung paßt sich nicht in das Schema der genannten Autoren ein, weder für Typhus, noch für den unveränderten Gärtner-Stamm (13,4), noch für J_3. Jedenfalls mahnen die Versuchsresultate zur Zurückhaltung bezüglich der etwaigen Gleichsetzung von J_3 und Typhus.

Es wurden daher Bindungsversuche nach Castellani vorgenommen.

1) J_3-Serum wird in Parallelreihen mit gleichen Kulturmengen von J_3, 13,4, 7322 und 9103 behandelt, nach 24 Std. von den Bakterien befreit und gegen die 4 Kulturen austitriert. Ergebnis:

Behandlung mit J_3-Kultur entfernt die Agglutinine für alle 4 Stämme vollkommen.
„ „ 13,4- „ „ „ „ für J_3 und 13,4 vollkommen, für die beiden Typhen bis auf geringe Reste.
„ „ 7322- „ } „ „ „ { für Typhen vollkommen, für J_3 nur teilweise, für 13,4 bis auf geringe Reste.
„ „ 9103- „ }

2) Ty-Serum 9103 wird in Parallelreihen mit gleichen Kulturmengen von J_3 und 9103 behandelt, nach 24 Std. von den Bakterien befreit und gegen die 4 Kulturen des vorigen Versuchs austitriert. Ergebnis:

Behandlung mit J_3-Kultur entfernt die Agglutinine für J_3 und 13,4 vollkommen, für Typhus in erheblichem Maße (schwache Agglutination bei $\frac{1000-2000}{16\,000}$).
„ „ 9103- „ „ „ „ für alle Stämme vollkommen.

Die Unterschiede der mit den verschiedenen Kulturen vorbehandelten Sera sind nicht sehr ausgesprochen; immerhin weisen sie auf Differenzen im Rezeptorenapparat der Kulturen hin, die mit dem aus dem agglutinatorischen Verhalten gewonnenen Deutungsversuch sich erklären lassen. Eine zweite Reihe von Absättigungsversuchen wurde mit Kulturen vorgenommen, die 1 Std. auf 100° erhitzt worden waren. Die Prüfung der nach 24 Std. von den Bakterien befreiten Sera geschah gegenüber unerhitzten Stämmen von J_3, 13,4, 9103 und 7322.

1) J_3-Serum, absorbiert mit erhitzter J_3-Kultur, enthält geringe Mengen von Agglutininen für J_3 und 13,4 $\left(\frac{1000}{16\,000}\right)$ und nicht unerhebliche Mengen feinflockender Agglutinine für Typhus $\left(\frac{8000}{32\,000}\right)$.

2) J_3-Serum, absorbiert mit erhitzter 9103-Kultur, enthält verminderte Agglutininmengen $\left(\frac{4000}{16\,000}\right)$ für J_3 und 13,4 und ebenfalls quantitativ verminderte, feinflockende Agglutinine für Typhus $\left(9103\ \frac{8000}{32\,000};\ 7322\ \frac{4000}{32\,000}\right)$.

3) 9103-Serum, absorbiert mit erhitzter J_3-Kultur, enthält keine Agglutinine für J_3 und 13,4, stark verminderte Agglutinine von sehr

1) Fürth, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 35. S. 162 (1923).

langsamer Wirkung für Typhus $\left(\frac{2000}{16\,000}\right)$.

4) 9103-Serum, absorbiert mit erhitzter 9103-Kultur, enthält keine Agglutinine für J_3 und 13,4, stark verminderte Agglutinine von sehr langsamer Wirkung für Typhus $\left(9103\ \frac{2000}{16\,000};\ 7322\ \frac{4000}{16\,000}\right)$.

Die Deutung dieser Versuchsergebnisse im Verein mit denen der 1. Reihe von Absättigungsversuchen und den Agglutinationsversuchen mit unbehandelten Seren stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Die relativ einfache Analyse der Rezeptoren, die wir vorher versucht hatten, versagt; selbst unter Zuhilfenahme der Hypothese verschiedener labiler und stabiler Nebenrezeptoren bei beiden Kulturen gelang es mir nicht, eine befriedigende Erklärung zu finden. Die Differentialdiagnose zwischen dem Typhuscharakter des J_3-Stammes und seiner Natur als eine stark abweichende Variante des Gärtner-Bazillus ließ sich somit auch auf diese Weise nicht stellen. Manche Beobachtungen, insbesondere die des weitgehenden agglutinatorischen Parallelismus mit einem echten Gärtner-Stamm (13,4) mahnen zur Zurückhaltung und vorläufig zu einem „non liquet" trotz kulturell und serologisch enger Verwandtschaft mit dem Typhusbazillus. Der sichere Beweis der Artumwandlung steht in diesem Falle noch aus.

Anmerkung bei der Korrektur: Daß diese Zurückhaltung das Richtige traf, ergibt sich aus der Tatsache, daß inzwischen (August 1924) eine der 5 aufbewahrten, gaslosen Tochterkulturen wieder Gasbildungsvermögen erworben hat.

---

41. R. Schnitzer und E. Berger (Berlin) siehe Seite 114):

Ueber die Wirkungsweise des Optochins gegenüber Pneumokokken.

In dem vorhergehenden Referat hat Herr Morgenroth im Anschluß an die Erscheinungen der Arzneifestigkeit bei Pneumokokken und Streptokokken eine „Pseudofestigkeit" aufgestellt, die dadurch gekennzeichnet ist, daß mit der anscheinend erzeugten spezifischen Arzneifestigkeit eine tiefgreifende Veränderung anderer biologischer Merkmale, insbesondere ein Virulenzverlust, eintritt, und daß durch eine unspezifische Provokation dieser letzteren Veränderungen auch wiederum eine „Festigkeit" erzielt wird.

Es seien hier neue Untersuchungen über derartige Veränderungen mitgeteilt, welche Pneumokokken durch die Einwirkung von Optochin in vitro unter bestimmten Bedingungen erleiden können.

Es dienten zu diesen Versuchen frisch von menschlichen Erkrankungen gezüchtete Pneumokokken, die sich in allen Merkmalen — Wachstum in Kultur, Gallelöslichkeit — typisch verhielten, vor allem hohe Mäusepathogenität (tödliche Dosis: 1:10 Millionen und weniger) und die normale hohe Optochinempfindlichkeit aufwiesen. Im Reagenz-

glasversuch mit Optochin wurde noch durch Konzentrationen von rund 1:1 Million bis 1:2 Millionen Abtötung erzielt.

Es gelingt nun etwa in 80 Proz. der Fälle, dieses charakteristische Verhalten der Stammform zu verändern, wenn man sie 18 bis 20 Stunden bei 37° in einer Serumbouillon hält, die einen Zusatz von 10 Proz. Trockenhefe oder Tierkohle enthält. Die aus solchen Medien gewonnenen Pneumokokken zeigen noch die charakteristschen Merkmale des echten Pneumococcus, insbesondere Lanzettform, Kapselbildung, Gallelöslichkeit und eine unverändert hohe Virulenz für Mäuse.

Die eingreifende Veränderung, die solche Stämme erlitten haben, tritt erst in ihrem Verhalten gegenüber Optochin zu Tage. Wir bezeichnen diesen Zustand als die Modifikation A.

Wird nämlich ein solcher Stamm, fast immer nach einer weiteren Passage über Blutagar und hefefreie Serumbouillon, in üblicher Weise im Reagenzglasversuch mit Optochin geprüft, so erfolgt schon bei relativ sehr starken Konzentrationen zwischen 1:8000 bis 1:64000 Wachstum. Dieses unterscheidet sich auf den ersten Blick von der sonst üblichen Entwicklung der Pneumokokken in Serumbouillon, indem die Kulturen klar mit starkem flockigen oder krümeligen Bodensatz wachsen. Impft man aus diesen Röhrchen auf Blutagar ab, so erhält man atypische Kolonien, die durch zartes Wachstum kalottenartig erhabener Kolonien mit grüner Verfärbung des Blutagars gekennzeichnet sind.

Diese atypischen Pneumokokken werden als Modifikation B bezeichnet. Sie sind außer durch das eben geschilderte kulturelle Verhalten morphologisch von der Stammform unterschieden durch die Bildung oft sehr langer gewundener Ketten, in denen die Kugelform vorherrschend ist. Die Modifikation B ist aber vor allem charakterisiert durch den Verlust der Gallelöslichkeit und einen Sturz der Virulenz. Diese beträgt nur noch millionstel Bruchteile der ursprünglichen Virulenz, d. h. die Stämme sind für Mäuse fast avirulent und nur bei Anwendung sehr starker Infektionsdosen gelingt es, im Subkutangewebe der Maus Phlegmonen hervorzurufen. Die Modifikation B kann vom grünwachsenden Streptococcus (Typus α der Amerikaner) nicht mehr unterschieden werden.

Es gelingt also durch Züchtung in hefe- bzw. kohlehaltiger Serumbouillon die Stammform der Pneumokokken in die Modifikation A überzuführen, welche bei nachfolgender einmaliger Optochinbehandlung in die Modifikation B weitergeht.

Die oben schon näher bestimmten Merkmale der Modifikation A, d. h. ihr besonderer Reaktionsmodus auf Optochin, sind häufig von längerer Dauer. In einem Versuch blieb Modifikation A durch 19 Kulturgenerationen erhalten. In einem anderen Versuch war sie bei einer Prüfung nach 9 Tierpassagen noch vorhanden, nach 14 direkten Tierpassagen in die Stammform zurückgeschlagen.

Bei der Modifikation B kommt ein Rückschlag zur Stammform vor. Sehr häufig geht die Veränderung, die zur Modifikation B geführt hat, weiter, und zwar sowohl bei gewöhnlicher Fortzüchtung im regelmäßigen Turnus Serumbouillon-Blutagar-Serumbouillon, wie bei subkutaner Infektion von Mäusen mit relativ großen Dosen und führt zu der Modifikation C, die mit dem hämolytischen Streptococcus in allen Merkmalen identisch ist. Derartige Stämme

zeichnen sich durch eine besonders hohe Virulenz für Mäuse aus und besitzen auch eine recht erhebliche Empfindlichkeit gegenüber Rivanol. In einigen Versuchen erfolgte der Uebergang zur Modifikation C im neuerlichen Reagenzglasversuch mit Optochin und zweimal — analog den kürzlich von Freund mitgeteilten Befunden an grünwachsenden Streptokokken — im subkutanen Desinfektionsversuch mit Rivanol.

Der Uebergang der Stammform über die Modifikation A zu B und schließlich deren Umwandlung in die C-Form läßt sich, wie hier nur kurz erwähnt sein mag, auch dann herbeiführen, wenn man die wirksamen Agentien, z. B. Trockenhefe, gleichzeitig mit dem Optochin einwirken läßt. Auch durch fortgesetzte Optochinbehandlung in vitro, wie es beim Festigungsverfahren üblich ist, kann die Umwandlung in die Modifikation B herbeigeführt werden, wie man annehmen darf, über den Weg der Modifikation A. Im allgemeinen sind dazu 10 bis 20 Optochinpassagen erforderlich.

Die Wirksamkeit des Optochins erstreckt sich danach in zwei Richtungen und zwar entfaltet es gegenüber der Stammform seine hohe abtötende Wirksamkeit, gegenüber der Modifikation A kommt die zum Virulenzsturz führende Komponente zur Geltung. Mit Versuchen chemischer Variation in dieser Richtung sind wir beschäftigt.

Es sei auch hier bereits darauf hingewiesen, daß einige von Morgenroth gemeinsam mit uns vorgenommene fortlaufende Sputumuntersuchungen an pneumoniekranken Menschen, das Vorkommen von analogen Modifikationen der Pneumokokken im Verlaufe der Krankheit gezeigt haben. Während und nach der Krisis treten avirulente Modifikationen der ursprünglich vorhandenen virulenten Pneumokokken im Sputum auf, Befunde, die darauf hindeuten, daß diesen biologischen Veränderungen des Erregers für den Krankheitsablauf, insbesondere die Krisis, wohl eine entscheidende Bedeutung zukommt.

Die Bearbeitung der naheliegenden Frage nach den antigenen Eigenschaften der Modifikationen ist in Angriff genommen; wir möchten uns diese vorbehalten.

---

42. Küster (Oberursel a. T.) (s. S. 73*):

Interferometrische Untersuchungen

nach P. Hirsch zum Nachweis der Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose.

Aus den zielbewußten Forschungen Abderhaldens wissen wir, daß beim Eindringen blutfremder Eiweißstoffe (vielleicht auch einiger Saccharate, Lipoide) in den Säftestrom des höheren Tieres Reaktionskörper, bisher allgemein Abbaufermente genannt, im Blutserum nachweisbar werden, welche die Eigenschaft haben, den blutfremden Stoff abzubauen. Ob dieser Abbau als Abwehrbewegung (= Heilbestreben des Organismus), als eine Entgiftung, als ein parenteraler Verdauungsvorgang oder irgendwie anders aufzufassen ist, ob

die Abbauprodukte dem Aufbau von Körpersubstanzen dienen oder ausgeschieden werden, ob sie nützlich im Sinne von Immunkörpern wirken können oder gar schädlich, giftig sind, ist im einzelnen Fall noch ungeklärt; ebenso unentschieden erscheint noch, ob die Reaktionskörper Fermente oder Antikörper sind, ob sie neugebildet oder nur in vermehrten Mengen in den Säftestrom ausgeschieden werden. Alle diese Fragen haben großes wissenschaftliches Interesse, wichtiger und von grundlegender Bedeutung ist der Umstand, daß die Abderhaldenschen Reaktionskörper im frischgewonnenen Blutserum außerhalb des Körpers nachgewiesen werden können, weitgehende Spezifität besitzen und deswegen einen großen diagnostischen Wert haben.

Schon vor Jahren ist Abderhalden mit dem Nachweis obiger Reaktionskörper in der „Abderhalden-Reaktion" an die Oeffentlichkeit getreten, konnte aber keinen breiten Eingang in die diagnostisch-medizinische Praxis finden, da einerseits die Schwierigkeit der Originaltechnik, Selbstherstellung der benötigten Testobjekte, Prüfen und Arbeiten mit der Dialysierhülse, Ablesedifferenz in der Beurteilung einer Farbenreaktion, subjektiver Versuchsfehler beim Ablesen des Polarisationsapparates usw., offenbar zu manchen diagnostischen Irrtümern führten, andererseits die Möglichkeit einer exakten quantitativen Bewertung des Untersuchungsergebnisses nach der Original-Abderhalden-Methodik die diagnostische Differenzierung wichtiger Fragen unmöglich machte.

Eine ganz andere wissenschaftliche Bewertung für diagnostische Zwecke verdient und erfährt die Abderhalden-Reaktion, seitdem Untersuchungsmethoden bekannt geworden sind, welche, die Schwierigkeiten der Original-Abderhalden-Methodik vermeidend, den subjektiven Untersuchungsfehler ausschließen und eine quantitative Messung der Abderhalden-Reaktionskörper ermöglichen. Unter diesen exakten und allgemein durchführbaren Untersuchungsmethoden nimmt die Interferometer-Meßmethode der Abderhalden-Reaktionskörper, welche von P. Hirsch im Pharmakologischen Institut Jena (Direktor Prof. Dr. Kionka) ausgearbeitet wurde, anerkannt die erste Stelle ein[1]).

Zur Prüfung der praktisch-diagnostischen Brauchbarkeit der Interferometer-Methode erschienen uns Untersuchungen über die Erkennung der Tuberkulose besonders angezeigt. Die klinische Erkennung der Tuberkulose ist heute noch trotz aller Fortschritte der Untersuchungstechnik ein schwieriges Gebiet, und jede Unterstützung der Diagnose wäre daher zu begrüßen; sodann wären Abbauferment-Untersuchungen auf Tuberkulose vielleicht geeignet, weitere Aufklärung für die Immunitätsprobleme der Tuberkulose zu geben; endlich bildet der Umstand, daß die Tuberkulinhautreaktion biologisch auf den parenteralen Abbau von Tuberkelbazillen-Eiweißkörpern vielfach zurückgeführt wird, den Uebergang zu dem Forschen nach Tuberkulose-Abbaufermenten (Abderhalden-Reaktionskörper) im Organismus des Tuberkulösen, deren Entstehung ja auch auf den parenteralen Abbau von Tuberkelbazilleneiweiß zurückgeführt werden muß.

Die bisherigen Versuche zur Erkennung der Tuberkulose des Menschen mittels der Abderhalden-Reaktion auf Abwehrfermente sind fast durchgehends nach der Original-Abderhalden-Dialysier-Methode ausgeführt; nur ausnahmsweise wurden ergänzend Messungen der Abderhalden-Körper mit dem Polarisationsapparat herangezogen. Wenn die Ergebnisse dieser Untersuchungen sich auch nicht unmittelbar mit der Tuberkulose-Diagnose durch Nachweis der Abderhalden-Reaktion mittels des Interferometers nach P. Hirsch, Jena, vergleichen lassen, so gestatten sie in ihren Gesamtergebnissen doch einen gewissen Schluß auf die Verwendbarkeit der Abderhalden-Reaktion zur Diagnose der Tuberkulose überhaupt. Das Ergebnis der wichtigsten Arbeiten ist in Kürze folgendes:

---

1) Beschreibung des Interferometers und seiner Technik siehe: Hirsch, Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußmittel. 1922. H. 1/4, und Küster-Bode, Bruns Beiträge. Bd. 80. H. 1.

E. Lampé (Dtsche med. Woch. 1913. S. 1775) untersuchte insgesamt 30 Fälle auf Abbau von Tuberkelbazillen, tuberkulöser Lunge und normaler Lunge. Von 8 Gesunden, d. h. klinisch tuberkulosefreien Fällen, zeigten 3 einen Abbau gegen Tuberkelbazillen, während 5 keine Abbaufermente aufwiesen. Die klinische Diagnose als richtig vorausgesetzt = 62,5 Proz. richtiger Resultate. Von 8 klinisch tuberkuloseverdächtigen Personen bauten 5 Tuberkelbazillen ab, 2 Tuberkelbazillen und tuberkulöse Lunge, ein Fall kein Versuchspräparat: es wurde in 87,5 Proz. demnach die klinische Verdachtsdiagnose unterstützt. Von 14 Fällen klinisch sicherer Tuberkulose bauten 3 Tuberkelbazillen und tuberkulöse Lunge, 7 normale Lunge und tuberkulöse Lunge, 3 nur tuberkulöse Lunge und 1 nur normale Lunge ab: in 92,8 Proz. entsprach der Abbau der klinisch-positiven Diagnose. Der Autor hat auf Grund dieser Untersuchungen den Eindruck, daß bei der Tuberkuloseinfektion des Menschen zunächst nur Abbaufermente gegen Tuberkelbazillen, bei fortschreitender Tuberkulose dann auch gegen Lungengewebe und tuberkulöses Lungengewebe gebildet werden und bei weiterer Entwicklung der Krankheit auch in derselben Reihenfolge wieder verschwinden. Er hofft, daß sich aus der Abderhalden-Reaktion diagnostische, topographisch-diagnostische und prognostische Schlüsse auf die Tuberkulose des Menschen ziehen lassen.

Fränkel und Gumpertz (Dtsche med. Woch. 1913. S. 1585) veröffentlichen die Untersuchung von 82 Patienten auf Tuberkulose-Abbaufermente. Von 6 Lupusfällen reagierten 2 positiv; ebenso 1 Cystitis tuberculosa, während 1 unspezifische Cystitis negativ reagierte. 25 Fälle waren entweder klinisch sichere Tuberkulose oder tuberkuloseverdächtig. Von den verdächtigen 9 Fällen reagierten 5 positiv, 4 negativ. Die sicheren 16 Fälle mit positivem Bazillenbefund ergaben 12mal (= 75 Proz.) positiven Ausfall der Abwehrfermentreaktion auf Tuberkulose, und zwar zeigten die fiebernden Fälle unter diesen 16 in einem wesentlich höheren Prozentsatz Abwehrfermente gegen Tuberkulose, denn 8 fiebernde Fälle reagierten 7mal positiv, während 7 nicht fiebernde Fälle von offener Tuberkulose nur 5mal Abwehrfermente aufwiesen. 47 der Untersuchungsfälle waren klinisch frei von Tuberkulose; von ihnen gaben 16 eine positive Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose = 34 Proz. bzw. 25 Proz.; unter diesen 16 war bei 4 das Freisein von Tuberkulose zweifelhaft, 7 Fälle waren Karzinomkranke, 2 Gravide, 1 Darmblutung, 1 Urämie und 1 Pseudoleucaemia splenica. In einer anderen Untersuchungsserie hatte Gumpertz (Beitr. z. Kl. d. Tuberkulose 1914) unter 51 klinisch gesunden Fällen 15mal positiven Abbau auf Tuberkulosefermente, also 30 Proz. falsche Resultate. Die Autoren heben hervor, daß die biologische Grundlage für die Abderhalden-Reaktion von derjenigen der Pirquet-Reaktion wesentlich verschieden sein müsse, da sonst klinisch gesunde Erwachsene in 75—90 Proz. positive Reaktion aufweisen würden.

Jessen (Med. Kl. 1913. S. 1760) untersuchte 100 Krankheitsfälle nach Abderhalden. Von 62 Fällen klinisch sicherer, geschlossener Tuberkulose bauten 46 (= 75 Proz.) Tuberkelbazillen ab, während der Pirquet in 11 Fällen von diesen negativ war. Hingegen bauten 16 Fälle von geschlossener Tuberkulose Tuberkelbazillen nicht ab, während Pirquet unter diesen 5mal positiv war. Von 38 Fällen offener Tuberkulose waren 4 (= 10 Proz.) nach Abderhalden negativ, unter diesen Pirquet 1mal positiv, wohingegen 34 (= 90 Proz.) Tuberkelbazillen abbauten, während von diesen Pirquet 3mal negativ war. Jessen hält den Abbau von Tuberkelbazillen für diagnostisch, den Abbau von tuberkulösem Gewebe für prognostisch verwendbar. Stark ausfallende Abderhalden-Reaktion erscheint günstig für die klinische Besserung; mit der Heilung gehen die Abderhalden-Reaktionskörper zurück bzw. sie verschwinden.

Zu einem abfälligen Urteil über die Abderhalden-Reaktion kommen:

Wolff und Frank (Berl. klin. Woch. 1914. S. 875). Sie untersuchten 42 Fälle von klinischer Tuberkulose; 15 Fälle von klinisch Gesunden, und finden in allen Stadien der Tuberkulose gelegentlich Abbau von Tuberkelbazillen und tuberkulöser Lunge, und zwar derartig, daß in frühen Stadien der Tuberkulose häufiger Tuberkelbazillen (60 Proz. : 21 Proz.), in späten Stadien häufiger tuberkulöse Lunge (54 Proz. : 28 Proz.) abgebaut wird. Gesunde Lunge wird in Früh- und Spätstadien etwa gleich häufig abgebaut (37 Proz. : 33 Proz.). Die Ablehnung der diagnostischen und prognostischen Verwendbarkeit gründen die Autoren auf der Tatsache, daß nach ihren Untersuchungen klinisch gesunde Personen noch regelmäßiger und häufiger als Tuberkulöse Abbaufermente gegen Tuberkulose zeigten.

Gwerder und Melikjanz (Münch. med. Woch. 1914. S. 980) untersuchten 30 Fälle von klinisch sicherer Tuberkulose und fanden: Abbau von tuberkulöser Lunge positiv in 93 Proz., Abbau von normaler Lunge in 69 Proz., Abbau von normaler Leber in 50 Proz. Sie halten es für möglich, daß durch Toxine der Tuberkelbazillen andere Organgewebe, insbesondere diejenigen des endokrinen Systems

geschädigt werden und einen Organabbau nach Abderhalden dann aufweisen, ohne daß sie lokal tuberkulös infiziert sind.

Ammenhäuser (Münch. med. Woch. 1914. S. 2001) untersuchte 60 Patienten. Alle sicheren Fälle von Lungentuberkulose zeigten positiven Abbau, alle Fälle von Lungenkatarrh ohne Tuberkelbazillen bauten normales Lungengewebe ab, aber keine Tuberkelbazillen. Fälle von Drüsentuberkulose zeigten Abbaufermente gegen tuberkulöse Lymphdrüsen. 3 Tuberkulöse bauten Placentarpulver ab. 13 Fälle, die klinisch frei von Tuberkulose waren, zeigten 2mal einen Abbau von Placentargewebe, aber in keinem Fall einen Abbau von Tuberkelbazillen und tuberkulösen Geweben. Wissenschaftlich besonders interessant ist, daß es dem Autor nach seinen Angaben gelungen ist, mit dem Serum stark abbauender Tuberkulosefälle die Abbaufermente durch Injektion auf Meerschweinchen zu übertragen und nach 6 Wochen bei den Meerschweinchen noch nachzuweisen.

Es dürfte eine undankbare und praktisch nicht lösbare Aufgabe sein, in eine genaue Kritik dieser Arbeiten einzutreten, da erstens die klinische Diagnose nicht nachzuprüfen ist, außerdem ist ein genauer Vergleich deswegen nicht zulässig, weil die genannten Autoren nicht mit den gleichen Organpulvern gearbeitet haben, und endlich bietet die Organabbaureaktion nach Abderhalden zugestandenerweise erhebliche Schwierigkeiten, deren Ueberwindung im Einzelfall nicht nachgeprüft werden kann. Gleichwohl darf man meines Erachtens aus der Gesamtheit der Untersuchungen den Schluß ziehen, daß die Tuberkuloseinfektion des Menschen in einem so hohen Prozentsatz zur Entstehung von Tuberkuloseabbaufermenten im Blutserum führt, daß mindestens eine diagnostische Verwendbarkeit sehr wohl in Frage kommt, wenn die Untersuchungen mit einwandsfreier Technik durchgeführt werden. Erfahrungsgemäß bietet das Ausschließen einer Tuberkuloseinfektion beim Menschen unendlich viel größere Schwierigkeiten als wie die Diagnose einer vorliegenden Tuberkuloseinfektion, und dieses kommt auch durchgehends in der weitgehenden Uebereinstimmung der Abbaureaktion bei Tuberkulosefällen und der großen Divergenz in den Befunden bei tuberkulosefreien Fällen zum Ausdruck.

Das Verlangen nach klinisch größtmöglichster Sicherheit veranlaßte uns, Interferometer-Untersuchungen auf Abderhalden-Reaktionskörper bei Tuberkulose zunächst an Schlachttieren (Rindern) zu beginnen, weil wir hier in der Lage waren, durch Schlachtung und Autopsie unmittelbar im Anschluß an die Untersuchung unseren Befund zu kontrollieren.

Bereits Abderhalden und Andrejewsky (Münch. med. Woch. 1913. S. 1641) stellten Fermentabbauversuche nach Abderhaldens bekannten Methoden bei Rindertuberkulose an, die vor 10 Jahren veröffentlicht wurden.

„Gesunde Schlachttiere zeigten in ihrem Serum keinen Abbau gegen Tuberkelbazillen, er erfolgte jedoch auch nicht, wenn tuberkulöse Organe nachweisbar waren. Vereinzelt positive Resultate wurden gesehen, wenn Typus bovinus-Tuberkelbazillen als Abbaupulver in Abbau kamen. In allen diesen Fällen lag Miliartuberkulose vor, während bei lokalisierter Tuberkulose unter 50 Fällen nur 10mal ein Abbau von Tuberkelbazillen Typus bovinus verzeichnet wurde. — Ein wesentlich anderes Bild erhielten die Autoren, wenn sie an Stelle der Tuberkelbazillen nach Abderhaldens Vorschrift behandelte Organstückchen oder Pepton aus käsiger Pneumonie der Rinder zu den Abbau ersuchen verwandten. Bei der Untersuchung von insgesamt 35 tuberkulösen Fällen erhielten sie bei allen Tieren, die an Lungentuberkulose litten, einen positiven Abderhalden-Abbau des ausgekochten käsigen Pneumoniegewebes, bzw. des daraus hergestellten Peptons. Kein Abbau trat ein, wenn Miliartuberkulose vorlag. Von 50 normalen Schlachttieren reagierten 10 positiv, d. h. bauten die ebengenannten tuberkulösen Substrate ab. Latente Infektion und Versuchsfehler werden zur Erklärung herangezogen. Einige Male wurde gleichfalls normale Lunge, nach Abderhalden vorbereitet, abgebaut und als Erklärung ein frischer Einschmelzungsprozeß von Lungengewebe angenommen. — Diese ersten Befunde der Autoren konnten und können auf Einheitlichkeit und Eindeutigkeit natürlich keinen Anspruch erheben, immerhin genügten sie, um die Möglichkeit der Diagnose von Infektionskrankheiten mit Hilfe der Abbaufermente gegeben erscheinen zu lassen.

Auf Grund unserer heutigen wissenschaftlichen Erfahrungen dürfen wir, ohne den Autoren dieser Befunde irgendwie zu nahe zu treten, vielleicht doch unseren Standpunkt dahingehend formulieren, daß die Erhebung negativer Befunde bei positiven Fällen und umgekehrt, sich kaum durch latente Infektion oder Versuchsfehler ausreichend erklären lassen, sondern auf Ungenauigkeiten des qualitativen

Urteils, die auch von dem besten Untersucher sich nicht vermeiden lassen, und auf Ungleichheit des vorbereiteten Organgewebes, die in der Natur des Materials bedingt ist, zurückzuführen sind. Wir erachten uns zu dieser Annahme für berechtigt, weil neuere Untersuchungen über Reaktionskörpernachweis bei Rindertuberkulose zu wesentlich besseren, um nicht zu sagen sehr zufriedenstellenden Ergebnissen führten, in denen an Stelle des Abbauorgangewebes das Organpulver „Ozim" nach P. Hirsch, Jena, an Stelle der Dialysierhülsen und des Polarimeters das „Interferometer" von Zeiß, Jena, zur Untersuchung eingeführt wurde.

Die erste derartige Untersuchung zur Erkennung der Tuberkulose des Rindes mittels Interferometer und Ozim-Organpulver erfolgte von Hirsch, dem geistigen Urheber der Interferometer-Meßmethode, und dem ehemaligen Leiter der Jenaer Universitäts-Vet.-Klin., Mayer-Pullmann. Es betitelt sich: „Untersuchungen mit Hilfe der interferometrischen Methode bei Rindertuberkulose . . ."

Das Ergebnis der Untersuchungen dieser Autoren war folgendes: Von 12 makroskopisch tuberkulosefreien, gesunden Rindern zeigten 11 in ihrem Serum keinerlei verdächtige Abderhaldensche Reaktionskörper, d. h. sie bauten weder Pulver aus Tuberkelbazillen noch aus tuberkulosefreien Organen ab. Nur ein Fall zeigte Abbau für Pulver aus normaler Lunge, Pulver aus tuberkulöser Lunge und Pulver aus normalen Lungenlymphdrüsen. Pulver aus Tuberkelbazillen wurde nicht abgebaut. — Als Erklärung für diesen Ausfall wird von den Autoren an latente tuberkulöse Infektion gedacht, eine Erklärung, die unseres Erachtens nicht ausreicht, da sich der Abbau des normalen Lungenpulvers daraus nicht aufklären würde.

Von 20 tuberkulösen Rindern bauten alle diejenigen sämtliche Organpulver aus tuberkulösen Organen und Pulver aus Tuberkelbazillen ab, welche auf Grund des Tuberkulose-Tilgungsverfahrens geschlachtet wurden oder im Anfangsstadium der Tuberkulose standen. Rinder mit alter, verkalkter Tuberkulose zeigten zwar nur gegen einen Teil der in Versuch genommenen tuberkulösen Organpulver deutlichen Abbau, waren aber immerhin noch interferometrisch zu diagnostizieren. — Eine Kuh, welche wegen Festliegens nach der Geburt zur Schlachtung kam, zeigte Abbau gegen normales und tuberkulöses Milzpulver. Bei der Schlachtung war die Milz zwar geschwollen, jedoch makroskopisch nicht tuberkulös. — Eine Kuh mit Echinokokken der Lunge baute Pulver aus normaler Lunge, aber kein normales Lymphdrüsenpulver und kein tuberkulöses Substrat ab.

Analog zeigte eine Kuh mit Fremdkörpern in der Leber Abbau von normalem Leberpulver, während sie tuberkulöses Leberpulver nicht abbaute. Andererseits dokumentierte sich die gleichzeitig bestehende Lungentuberkulose dieses Tieres durch Abbau von Pulver aus tuberkulöser Lunge, tuberkulösen Lungenlymphdrüsen und Tuberkelbazillen. Als ein Fehlresultat hätte man bei streng kritischer Betrachtung einen Fall ansprechen können, bei dem das Serum eines nicht tuberkulösen Tieres Abbau von normaler Lunge und Tuberkelbazillen tätigte. Da die Kuh aber 40,1° Fieber hatte, durch Fieber wiederum sicher Protoplasmazellen im Körper zerstört werden und hierdurch die Bedingungen zur Bildung von proteolytischen Abwehrfermenten gegeben sind, ist der Abbau eines normalen Organs natürlich. Den Abbau der Tuberkelbazillen erklären die Verfasser aus dem Vorhandensein von Abwehrkörpern aus einer früheren tuberkulösen Ansteckung, die beim Rinde ebenso wie beim Menschen überaus häufig ist. Ein Abbau von Tuberkelbazillen allein, im Gegensatz zu dem Abbau anderer Organsubstrate, infolge der bei der Tuberkulose besonders kompliziert liegenden Verhältnisse ist nach den Autoren noch nicht als schlagender Beweis für die Gegenwart von Tuberkulose anzusprechen, wie an Hand der Muchschen Forschung klargelegt wird.

Die Untersuchungen der nachweislich tuberkulösen Tiere ergaben in jedem Falle richtige Resultate, so daß, abgesehen von den beiden erwähnten zweifelhaften Fällen, die mittels der interferometrischen Methode gestellten Diagnosen in ausgezeichnetem Einklang mit dem Schlachtbefund standen und als ein weiterer Beweis für die Spezifität der Abwehrfermente gelten können.

22 Rinder wurden interferometrisch als tuberkulös erkannt, 21mal bestätigte die Schlachtung das Vorliegen von Tuberkulose, in einem Falle[1]) konnte kein tuberkulöser Abbau trotz Bestehens der Tuberkulose festgestellt werden. — Der gefundene interferometrische Abbau war bei den einzelnen tuberkulösen Tieren quantitativ sehr verschieden. Im großen und ganzen zeigten tuberkulöse, doch kräftige und gut genährte Tiere einen hohen Abbau für tuberkulöse Organpulver und Tuberkel-

1) Bei dem oben erwähnten einen Fehlresultat handelte es sich um eine ausgesprochene Kachexie, eine Erfahrung, die ähnlich schon längst bei der Original-Abderhalden-Untersuchung von Human-Tuberkulosefällen gemacht wurde.

bazillen, während Kachektiker geringe Fermentbildung aufwiesen. Bezüglich des Stadiums der Krankheit wurden bei frischen Infektionen mehr Abbaufermente festgestellt als bei alten abgekapselten Herden.

In dem Pharmazeutischen Institut L. W. Gans Oberursel (Taunus) führten wir mit freundlicher Unterstützung von Herrn Schlachthoftierarzt Dr. Luft, Bad Homburg, bisher eine Reihe von Interferometer-Untersuchungen auf Rindertuberkulose aus, von denen nur 49 Fälle hier erwähnt seien, weil wir bei denselben die interferometrischen Befunde durch genaue Untersuchung nach der Schlachtung kontrollieren konnten.

Von 27 Rindern, die sich bei der Schlachtung als tuberkulosefrei erwiesen, ergaben 23 keinen Abbau von tuberkulösen Organen oder Tuberkelbazillen, während 4mal ein Abbau festgestellt wurde. — Die durchschnittliche Höhe des Abbaues hält sich in diesen 4 Fällen jedoch beträchtlich unter der der sicher tuberkulös erkrankten Tiere. — Wir erachteten bei unserer ersten Veröffentlichung den einen Fall in der erstgenannten Gruppe und diese 4 Fälle als Fehlresultate, gaben also 10 Proz. Fehlresultate zu. — Nach unseren heutigen Erfahrungen, die sich auf eine große Reihe von Interferometer-Untersuchungen auf den verschiedensten Krankheitsgebieten erstrecken, müssen wir unsere Ansicht dahingehend modifizieren, daß bei jeder Interferometer-Untersuchung und insbesondere bei Untersuchungen auf Tuberkulose 3 Stadien des Abbaues quantitativ und diagnostisch unterschieden werden müssen: 1. Das bestimmte Organpulver wird gar nicht oder nur wenige Trommelteile abgebaut = das Organ ist gesund. Der Abbau erklärt sich durch physiologischen Umsatz in dem Organzellenbestand. — 2. Das bestimmte Organpulver wird in mittlerer, durch die Erfahrung festgelegter Höhe abgebaut = das entsprechende Organ befindet sich im Anfangsstadium der Erkrankung bzw. in gesteigertem, aber noch physiologischem Zellenumsatz (korrelative Beeinflussung). — 3. Das Organpulver zeigt hohen Abbau = das zugehörige Organ ist in spezifischer Weise erkrankt.

Die Zahl der auf Rindertuberkulose interferometrisch untersuchten Rinder ist bisher noch verhältnismäßig klein, gleichwohl glauben wir schon heute dazu berechtigt zu sein, dieser Methode eine diagnostische Bedeutung für die Rindertuberkulose zuzusprechen und sie als Hilfsmittel bei der Tuberkulosetilgung der Beachtung zu empfehlen. Wahrscheinlich wird es nicht nur gelingen, die Diagnosestellung zu unterstützen, sondern auch Rückschlüsse auf die Lokalisierung und das Stadium der Krankheit zu machen und bei wiederholten Untersuchungen ein prognostisches Urteil abzugeben.

Nach diesen Vorversuchen über Nachweis der Rindertuberkulose an Schlachttieren, die als gesicherte Vorversuche für Interferometernachweis von Tuberkulose am Menschen dienen sollten, begannen wir mit der Untersuchung von humanen Tuberkulosefällen. Den Schwierigkeiten, die der sicheren Feststellung, besonders aber dem sicheren Ausschluß von Tuberkulose beim Menschen entgegenstehen, suchten wir nach Möglichkeit dadurch zu entgehen, daß wir zu den Untersuchungen klinische Fälle des Kreiskrankenhauses, Bad Homburg v. d. H. (Dir. Prof. Dr. Bode), wählten, die dort im Krankenhaus nach Möglichkeit klinisch, röntgenologisch und spezialärztlich-chirurgisch gesichert wurden; wir untersuchten diese Fälle ohne Kenntnis der klinischen Diagnose in Oberursel, zum Teil wiederholt, interferometrisch und schickten von dem gleichen Fall, möglichst von der gleichen Blutentziehung, 1 Röhrchen Blut zugleich nach dem Kaiser Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Berlin-Dahlem[1]), zur Untersuchung

1) Für die gütige Ausführung dieser Komplement-Ablenkungen auf aktive Tuberkulose sprechen wir auch an dieser Stelle dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie unseren verbindlichsten Dank aus.

auf aktive Tuberkulose. Wir verfügen bis jetzt über 34 Fälle, die in Kürze hier angeführt seien:

Abkürzungen:

Tb.B. = Organpulver aus Tuberkelbazillen.
Tb.L. = „ „ tuberkulöser Lunge.
L.N. = „ „ normaler Lunge.
Tb.Ly. = „ „ tuberkulöser Lungenlymphdrüse.
C. = Controlle.
Wa.R.A. = Wassermann-Reaktion auf aktive Tuberkulose.
+ = 5—15, ++ = 15—25, +++ = 25—50, ++++ = über 50 T.T. (Interferometer-Trommelteileabbau).

F. 1. D.B. 9. VII. 23. Klin. B.: Alte vernarbte Spitzentuberkulose; Bronchitis; arteriosklerotische Schrumpfniere; Duodenal-Ulkus. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; L.N.: +++; Tb.Ly.: +; C.: 0; Interfer. Diag.: Nicht spezifische Bronchitis; geringgradige Tuberkelbazilleninvasion. Wa.R.A.: Am 9. VII. 23: ++; am 11. XII. 23: —.

F. 2. H.J. 9. VII. 23. Klin. B.: Appendicitis tuberculos. (?) nach Operation histologisch nicht bestätigt. Interfer. B.: Tb.B.: +++; Tb.L.: ++; L.N.: +++; Tb.Ly.: ++; C.: 0. Interfer. Diag. Erhebliche Bazilleninvasion; nicht spezifische Bronchitis; tuberk. Drüsen. Wa.R.A.: —.

F. 3. L.W. 9. VII. 23. Klin. B.: Abgelaufene Pleuritis; Lungentuberkuloseverdacht; Mesenterialdrüsen-Tuberkuloseverdacht. Interf. B.: Tb.L.: +++; L.N.: +; C.: 0. Interfer. Diag.: Erhebliche Lungentuberkulose. Wa.R.A.: +.

F. 4. A.D. 9. VII. 23. — 14. IX. 23. Klin. B.: Lungentuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: ++; L.N.: ++; Tb.Ly.: +; Interfer. Diag. Tbc.-Bazilleninvasion; Bronchitis mit mäßiger Lungentuberkulose und Befallensein der Drüsen. Wa.R.A.: am 14. VII.: Eigenhemmung; am 26. VII.: ±.

F. 5. W.M. 24. VII. 23. Klin. B.: Kalter Abszeß der Rippe, tbc.?; pathologisch-histologisch: Tb. nicht nachweisbar. Interfer. B.: Tb.B. ++; C.: 0. Interfer. Diag.: Erhebliche Bazilleninvasion. Wa.R.A.: am 26. VII. 23: Eigenhemmung; am 15. VIII. 23: ±.

F. 6. H. 23. VII. 23. — 14. IX. 23. Klin. B.: Spondylitis tub. und Lungentuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tb.L.: ++; L.N.: ++; Rückenmarkabbau: ++++; C.: 0. Interfer. Diag.: Erhebliche Bazilleninvasion mit Befallensein der Lungen; tbc. Bronchitis. Starke Rückenmarksstörung. Wa.R.A.: Eigenhemmung. (6. VII.)

F. 7. E.J. 25. VII. 23. Klin. B.: Lungentuberkulose; Bazillenbefund —; Polyarth. tbc. Interfer. B.: Tb.B.: ++ Tb.L.: +; L.N.: ++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Erhebliche Bazilleninvasion und Bronchitis; tbc. Befallensein der Lymphdrüsen. Wa.R.A.: am 25. VII. 23; — ; am 16. V 24: —.

F. 8. K.N. 26. VII. 23. — 14. IX. 23. Klin. B.: Schwere Lungentuberkulose; tbc. Kachexie. Interfer. B. 26. VII. 23: Tb.B.: +; Tb.L.: +; L.N.: +++; Tb.Ly.: +; C.: 0. Interfer. Diag.: Bazilleninvasion; Bronchitis; tbc. Invasion der Ly.Drüsen. Wa.R.A.: ++; Interfer. B.: am 14. IX. 23: Tb.B.: 0; Tb.L.: +; N.L.: 0; Tb.Ly.: 0 = Versagen der Abbaufermente bei vorgeschrittener Kachexie.

F. 9. I.E. 26. VII. 23. Klin. B.: Lungentuberkulose; tbc. Bazillen +. Interfer. B.: Tb.L.: +; N.L.: ++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Bazilleninvasion; Bronchitis; tbc. Drüsen. Wa.R.A.: ++.

F. 10. K.A. 30. VII. 23. — 14. VIII. 23. Klin. B.: Lungentuberkuloseverdacht; feuchte Rasselgeräusche links hinten oben. Röntgenologisch: vermehrte Hiluszeichnung mit Strängen zu den Oberlappen. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L. +; N.L.: +; Tb.Ly.: +. Interfer. Diag.: Wahrscheinlich Lungentuberkulose. Wa.R.A.: am 30. VII. 23: —. Am 14. VIII. 23: +++.

F. 11. M.R. 3. VIII. 23. Klin. B.: Diffuse Bronchitis; Lungenblutung nach Grippe; Tuberkulose fraglich. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; N.L.: +; Tb.Ly.: 0. Interfer. Diag.: Tuberkelbazilleninvasion; nicht spezifische Bronchitis; Drüsen nicht tuberkulös erkrankt. Wa.R.A.: + schwach. Der weitere klinische Verlauf spricht nicht für Tuberkulose.

F. 12. H.Sch. 6. VIII. 23. Klin. B.: Rechte Spitze Schallverkürzung; verschärftes Exspirium; nach Husten Giemen und feuchte Rasselgeräusche. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +++; L.N.: +; Tb.Ly. +. Interfer. Diag.: Befallensein mit Tuberkelbazillen; Tbc. der Lunge. Lymphdrüsen nicht oder wenig befallen. Wa.R.A.: am 10. VIII. 23: Eigenhemmung.

F. 13. L.B. 21. VIII. 23. Klin. B.: Lungentuberkuloseverdacht; trockenes Rasseln; Schmerzen beim Atmen. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; Tb.Ly.: +. Interfer. Diag.: Tuberkelbazilleninvasion; nicht spezifische Bronchitis; tuberkulöses Befallensein der Lymphdrüsen. Wa.R.A.: 23. VIII. +++.

F. 14. W.Kl. 23. VIII. 23. Klin.B.: Abgelaufene Pleuritis; diffuses Knistern und trockene Rasselgeräusche. Röntgenologisch: Verdunkelung der linken Spitzen; einzelne Herde. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: ++; L.N.: ++. Interfer. Diag.: Tuberkulöse Infektion mit Lungenlokalisation; Bronchitis. Wa.R.A.: am 28. VIII.: —.

F. 15. K.L. 23. VIII. 23. — 30. XII. 23. Klin. B.: Diffuse Schatten über beiden Lungen und Knistern; Nachtschweiße; Abmagerung; reichlich Bazillen im Sputum. Interfer. B.: am 23. VIII: Tb.B.: +++; N.L.: +++; Tb.Ly. ++. Interfer. Diag.: Schwere Lungentuberkulose mit Befallensein der Drüsen. Wa.-R.A.: am 23. VIII. 23: — Interfer. B. am 30. XII. nach Verschwinden der Bazillen aus dem Auswurf: Tb.B.: +; Tb.L.: 0; N.L.: 0; Tb.Ly.: +. Pat. ist nach Tuberkulol (Landmann) wieder voll arbeitsfähig als Roßwärter.

F. 16. B.A. 18. IX. 23. Klin. B.: Schmerzen (Stechen) auf den Lungen; verschärftes Atmen; Lungentuberkuloseverdacht; Adnex-Tuberkulose (?) Interfer. B.: Tb.B.: +· Tb.L.: +; N.L.: +; Tb.Ly.: +. Interfer. Diag.: Wahrscheinlich Tuberkulose. Wa.R.A.: ++++ (3. XII. 23.).

F. 17. G.E. 9. X. 23. Klin. B.: Halsdrüsentuberkulose mit Abzedierung. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tb.L.: ++; L.N.: +++; Tb.Ly.: ++ Inter-Diag.: Tuberkulöses Befallensein von Lungen und Lymphdrüsen. Wa.R.A. am 29. XI. 23: fraglich, ob aktiv.

F. 18. H.E. 26. X. 23. Klin. B.: Mesenterialdrüsentuberkulose; Spitzentuberkulose; Ulcus pylori. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tb.L.: ++; L.N.: ++; Tb.Ly.: +++; Tbc. Mesent., Ly. Drüs.: +++. Interfer. Diag.: Lungen- und Mesenterialdrüsentuberkulose. Wa.R.A.: 29. XI. 23: ++.

F. 19. M.B. 30. X. 23. Klin. B.: Chronische Bronchitis tuberkulöser Infiltration der ganzen Lunge; Bazillenbefund: +. Interfer. B.: Tb.B.: +++; Tb.L.: +++; N.L. +++; Tb.Ly.: +++; C.: 0. Interfer. Diag.: Schwere Lungentuberkulose und Drüsentuberkulose. Wa.R.A. am 6. XI. 23: +++.

F. 20. S. G. 10. XI. 23. Klin. B.: Diffuse chronische Bronchitis. Röntgenologisch: herdförmige Trübung im Bereich der Oberlappen und des Hilus. Interfer. B.: Tb.B.: +++; TbL.: +++; N.L.: +++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Schwere Tuberkulose der Lunge mit Befallensein der Lungendrüsen. Wa.R.A. am 12. I. 24: +. Interfer. B. am 26. II. 24. Tb.B.: +; Tb.L. +; N.L.: +; Tb.Ly.: ++. Patientin hat sich klinisch wesentlich gebessert; interferometrisch ebenfalls; nur bezüglich der Lungenlymphdrüsen ist der Befund derselbe geblieben.

F. 21. E. B. 29. XI. 23. Klin. B.: Peritonealdrüsentuberkulose (operiert); Spitzentuberkulose links. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: ++; L.N.: ++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Tuberkulose mittleren Grades mit Lokalisation in Lungen und Lungenlymphdrüsen. (Auf Mesenterialdrüsen wurde nicht untersucht, da es nicht gefragt war und über die Diagnose vor der Untersuchung, wie stets, keine Angaben gemacht waren.) Wa.R.A. am 3. XII. 23: —

F. 22. E. M. 29. XI. 23. Klin. B.: Sichere Lungentuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: +++; Tb.L.: +++; N.L.: +++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Lungentuberkulose mit Erkrankung der Lymphdrüsen. Wa.R.A. am 3. XII. 23: +++. Interfer B. am 28. III. 24: Tb.B.: ++++; Tb.L.: ++++; N.L.: +; Tb.Ly: ++; C. 0. Wa.R.A. am 31. III. 24: +++.

F. 23. B. 12. I. 24. Klin. B.: Lungentuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tb.L.: +++; N.L.: ++++. Interfer. Diag.: Lungentuberkulose mit starker Beteiligung der Lymphdrüsen. Wa.R.A. am 15. I. 24: —.

F. 24. Sch. L. 19. I. 24. Klin. B.: Tuberkulose der Mesenterialdrüsen. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tbc. Mesent. Ly.: +++; N. Mesent. L.: ++; C.: 0. Interfer. Diag.: Mesenterialdrüsentuberkulose. Wa.R.A. am 21. I. 24: —.

F. 25. B. 13. II. 24. Klin. B.: Kniegelenkstuberkulose. Interfer. B.: Tb.B. ++++; C. 0. Interfer. Diag.: Tuberkulose. Lokalisierung mangels weiterer klinischer Angaben nicht möglich. Wa.R.A. am 18. II. 24: +.

F. 26. Frau M. 26. II. 24. Klin. B.: Splenomegalie und Polycytämie; Tuberkuloseverdacht. Interfer. B. Tb.B.: ++; Tb.L.: ++; L.N.: +++; Tb.Ly.: +++; C.: 5. Interfer. Diag.: Tb.-Bazilleninvasion mit Befallensein der Lungen und vorzüglich der Lungenlymphdrüsen. Wa.R.A. am 3. III. 24: —.

F. 27. B. 27. II. 24. Klin. B.: Emphysem, chronische Bronchitis. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Tb.L.: ++; N.L.: ++++; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Schwere Bronchitis mit tuberkulöser Infektion, besonders auch der Lymphdrüsen.

Wa.R.A. am 3. III. 24: —. Wiederholung am 3. IV. 24: Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; N.L.: +; Tb.Ly.: +. Interfer. Diag.: Lungentuberkulose auf dem Wege der Besserung. Wa.R.A. am 8. IV. 24: ±.

F. 28. E. 9. IV. 24. Klin. B.: Stenokardie; Dämpfung der linken Spitze. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; N.L.: +++; Tb.Ly.: +. Interfer. Diag.: Tuberkelbazilleninvasion mit vorwiegend nicht spezifischer Bronchitis. Wa.R.A. am 14. IV. 24: —.

F. 29. H. 15. IV. 24. Klin. B.: Lunge ohne pathologischen Befund; Impetigo contag. diffus. Interfer. B.: Tb.B. +++; Tb.L.: ++; N.L.: +; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Tuberkelbazilleninvasion mit Befallensein der Lungen und Lymphdrüsen. Wa.R.A. am 2. V. 24: —.

F. 30. St. 17. IV. 24. Klin. B.: Kniegelenkstuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: ++; Knochen: 0; C.: 0. Interfer. Diag.: Tuberkulöse Infektion; Knochen nicht befallen. Wa.R.A. am 24. IV. 24: fraglich, ob aktiv.

F. 31. A. 29. IV. 24. Klin. B.: Iridocyclitis, Keratitis tbc. Interfer. B.: Tb.B. +; Tb.L.: ++; L.N.: ++; Tb.Ly.: +; C.: 0. Interfer. Diag.: Tuberkulöse Affektion mit Befallensein der Lungen. Wa.R.A. am 2. V. 24: —.

F. 32. G. 15. V. 24. Klin. B.: Lungentuberkulose; rechte Spitze Dämpfung; Rasselgeräusche. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +; N.L.: +; Tb.Ly.: ++. Interfer. Diag.: Tuberkulöse Infektion mit geringem Befallensein der Lungen, hauptsächlich der Lungenlymphdrüsen. Wa.R.A. am 22. V. 24: —.

F. 33. M. 15. V. 24. Klin. B.: Tuberkulose beider Lungenspitzen; Dämpfung und leichte Rasselgeräusche. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: +++; C.: 0. Interfer. Diag.: Lungentuberkulose. Wa.R.A. am 22. V. 24: +++.

F. 34. E. M. 20. V. 24. Klin. B.: Spitzentuberkulose (?); Kniegelenkstuberkulose. Interfer. B.: Tb.B.: +; Tb.L.: ++; N.L.: ++; Tb.Ly.: —; C.: 0. Interfer. Diag.: Tuberkulöse Infektion mit Beteiligung der Lungen. Wa.R.A. am 24. V. 24: —.

Es ist ein schwieriges Unterfangen, bei einer neuen Untersuchungstechnik und der bereits erwähnten Schwierigkeit „Freisein von Tuberkulose" klinisch zu diagnostizieren, unsere 34 Untersuchungsbefunde kritisch zu bewerten. Gleichwohl muß im Interesse der Förderung der Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose nach der Interferometer-Methode von P. Hirsch der Versuch gemacht werden, zumal da die einzelnen Krankheitsgeschichten nach Möglichkeit ausgeführt und so genau bezeichnet sind, daß auch der Gegenkritik Raum gegeben, ein Umstand, der leider bei den früheren Veröffentlichungen meist nicht zutrifft.

Ich rechne 3 Fälle, und zwar 2, 26 und 29, für klinisch tuberkulosefrei. Diese Fälle sind, interferometrisch positiv, also falsch diagnostiziert, während sie in der Wassermann-Reaktion auf aktive Tuberkulose als „nicht aktiv", d. h. richtig angesprochen wurden. Man ist hier allerdings mangels weiterer Erfahrungen noch gezwungen, „aktiv" nach der Wassermann-Diagnose = „positiv" nach dem Interferometerbefund zu setzen, obwohl zweifellos bei weiteren Untersuchungen sich hier noch Differenzen ergeben werden. Zu dem Fall 26 ist zu bemerken, daß die Aetiologie der Splenomegalie noch unklar ist, und wenn auch keine Tuberkelbazillen bisher nachgewiesen sind, so wurden doch schon wiederholt Abbaufermente auf Tuberkulose bei dieser nachgewiesen. Sodann wurde bei ausgedehnten nicht lupösen Hauterkrankungen, zu denen Fall 29 zu rechnen ist, auch schon bei Fehlen aller sonstigen Anhaltspunkte für Tuberkulose, die Wassermann-Reaktion auf Tuberkulose aktiv befunden.

7 Fälle erscheinen klinisch auf Tuberkulose wohl verdächtig, aber zweifelhaft, und zwar: 3, 4, 11, 13, 16, 27 und 28. Von diesen wurden nach Wassermann 3 aktiv, 3 zweifelhaft, 1 negativ gefunden, während nach der Interferometer-Untersuchung 5 positiv und 2 fraglich erschienen. Es zeigt sich hier bei den

sicher klinisch negativen und den klinisch zweifelhaften Fällen schon ein deutliches Ausschlagen der Interferometer-Untersuchung nach der positiven Seite, d. h. die Interferometer-Untersuchung ist außerordentlich empfindlich, wesentlich empfindlicher als die Wassermann-Reaktion auf aktive Tuberkulose, und es gilt hier die Grenze zu ziehen, wann der Ausschlag des Interferometers als pathognomonisch, wann er noch als Ausdruck einer physiologisch gesteigerten, aber noch nicht krankhaften Organtätigkeit aufzufassen ist.

24 Fälle (die sich nach Abzug der bereits genannten ergeben) halte ich für klinisch sichere Tuberkulose: 19 und 15 mit Bazillen im Auswurf. Alle 24 Fälle erscheinen nach der Interferometer-Methode positiv; nach der Wassermann-Reaktion bleiben 9 zweifelhaft und 9 negativ (= unrichtiger Befund im Sinne unserer Zusammenstellung), während in 6 Fällen die klinische Tuberkulose aktiv gefunden wird. Von den beiden offenen Lungentuberkulosen wird eine aktiv, die andere nicht aktiv gefunden. Setze ich die klinisch sichere Tuberkulose als aktiv voraus, so sind interferometrisch 3, Fälle falsch diagnostiziert. In 9 Fällen wiederum ergibt sich eine Uebereinstimmung zwischen klinischer Diagnose, Komplement-Bindung und Interferometer-Diagnose.

Unsere bisherigen interferometrischen Untersuchungen zur Feststellung von Tuberkulose des Menschen sollen und können natürlich keine Kritik der Wassermann-Untersuchung auf aktive Tuberkulose darstellen, sondern lediglich beweisen, daß der Nachweis von tuberkulösen Reaktionskörpern zur Feststellung der menschlichen Tuberkulose nach dem Interferometer-Verfahren brauchbare Ausschläge gibt und zu Nachprüfungen an umfangreicherem Material Veranlassung bietet.

---

43. E. G. Dresel (Heidelberg):

Ueber Anthrakozidie und Bakterizidie[1]).

Um die zahlreichen Befunde über die anthrakoziden Kräfte im Serum von Kaninchen und Menschen zu klären (vergl. Dresel und Freund: Ueber die experimentelle Steigerung der Anthrakozidie im Blute, Arch. f. exp. Path. u. Pharm. Bd. 91. Heft 6; Dresel und Keller und E. G. Dresel: Zeitschrift f. Hyg. u. Infekt. Bd. 97. Heft 1 u. 2 und Bd. 100 Heft 2) mußte der Befund von Gruber und Futaki (1) nachgeprüft werden, daß neutralisiertes aktives Kaninchenserum seine anthrakozide Wirkung verliert und durch Realkalisierung wieder erhält. Dieser Befund konnte bestätigt werden und weiterhin wurde festgestellt, daß sich die Bakterizidie des Kaninchenserums gegen Staphylokokken bei Neutralisation mit n-Essigsäure ebenso verhält, während die bakteriziden Kräfte desselben Serum gegen Typhus- und Colibazillen durch Neutralisation und Realkalisation nicht beeinflußt werden.

Es wurde nun das Verhalten von aktivem und erhitztem Kaninchenserum gegen verschiedene grampositive und gramnegative Bakterien

1) Die Durchführung der Versuche wurde durch Unterstützung der Rockefeller Foundation ermöglicht.

untersucht. Dabei ergab sich, daß aktives Kaninchenserum bakterientötende Kräfte enthält gegen Milzbrandbazillen, Diphtheriebazillen, Staphylokokken, Pneumokokken, ein aus einem Hodenpunktat stammendes grampositives Stäbchen und gegen Typhus-, Colibazillen, drei Dysenterie-Flexnerstämme, einen Shiga-Krusestamm und Meningokokken. Eine halbstündige Erhitzung des Serums bei 53° im Wasserbade genügt, um die bakteriziden Kräfte gegen die gramnegativen Bakterien restlos zu zerstören, während bei dieser Temperatur nur ein Teil der bakteriziden Kräfte gegen die grampositiven Bakterien zerstört wird. Bei diesen reicht erst eine halbstündige Erhitzung des Serums bei 63° aus, um die bakteriziden Kräfte restlos zu zerstören. Sind im Kaninchenserum die anthrakoziden Kräfte durch Erhitzen für eine halbe Stunde auf 63° zerstört, so können sie durch nachträgliche Neutralisation des Serum mit $^1/_{10}$ n-Essigsäure und Realkalisation mit Natronlauge nicht wieder ausgelöst werden. Wird dagegen erhitztes Kaninchenserum durch Kohlensäuredurchleitung neutralisiert und dann durch Natronlauge realkalisiert, so lassen sich die baktericiden Kräfte gegen die gramnegativen Bakterien nicht wieder auslösen, dagegen treten die bakteriziden Kräfte gegen die grampositiven Bakterien zum größten Teil wieder auf. Auch unerhitztes Kaninchenserum verliert durch Neutralisation mit Kohlensäure einen erheblichen Teil der Wirkung, der durch Realkalisation mit n-Natronlauge wieder herstellbar ist. Hierbei kann die Neutralisation an sich nicht das für die Aenderung des Bakterienwachstums wirksame Prinzip sein. Denn, wenn die ursprüngliche Bakterizidie und die Neutralität des Nährbodens, also eines für Milzbrandbazillen ungünstigen Nährbodens, sich summierten, dann dürfte das Milzbrandwachstum nicht zur Norm zurückkehren, sondern müßte im Gegenteil schwächer sein als unter dem Einfluß der Anthrakozidie allein. Daher muß angenommen werden, daß die durchgeleitete Kohlensäure einen erheblichen Teil der anthrakoziden Kräfte unwirksam macht.

Anthrakozidinfreies Menschenserum kann durch Kohlensäuredurchleitung und nachträgliche Realkalisation nicht in ein anthrakozidinhaltiges verwandelt werden. Auch Vermischung von anthrakozidinfreiem eine halbe Stunde auf 53° erhitztem Menschenserum mit anthrakozidinfreiem unerhitzten Menschenserum löst keine anthrakoziden Kräfte aus.

Da sich früher ergeben hatte, daß aus anthrakoziden Seren in eingedampfte Alkoholextrakte anthrakozide Stoffe übergehen, wurde Alkoholextrakt aus ursprünglich anthrakozidem Serum, das durch Erhitzen für eine halbe Stunde auf 63° seine anthrakoziden Kräfte verloren hatte, hergestellt. Dieser Alkoholextrakt zeigte wieder anthrakozide Stoffe, während der Alkoholextrakt aus anthrakozidinfreiem Serum keine anthrakoziden Stoffe enthält.

Es ergab sich nun die Aufgabe, zu versuchen, durch Ausschaltung einzelner Faktoren dem Wesen der anthrakoziden Kräfte näher zu kommen.

Mit der Nitrophenolindikatorenmethode nach Michaelis, der Leitfähigkeitsmessung nach Kohlrausch und der Gefrierpunkterniedrigung nach Beckmann konnte nachgewiesen werden, daß die H- und OH-Ionen im Serum an der anthrakoziden Wirkung nicht beteiligt sind.

Auch das Kalzium ist an den anthrakoziden Kräften nicht beteiligt, denn durch Fällen des Kalzium mit oxalsaurem Natron werden die anthrakoziden Kräfte nicht aufgehoben.

Verdünnt man anthrakozides Serum mit destilliertem Wasser in steigendem Grade, so ist bei einer Verdünnung von 1 zu 4 die Anthrakozidie aufgehoben. Sie verschwindet bei schwächeren Verdünnungen, wenn das destillierte Wasser direkt zugesetzt wird, schneller als wenn die gleiche Verdünnung durch Dialyse hergestellt wird. Weiterhin wurden die anthrakoziden Kräfte des Serum in ihrem Verhalten bei der Dialyse durch selbstgefertigte Kollodiumhülsen geprüft. Es ergab sich, daß bei der Dialyse gegen fließendes destilliertes Wasser die anthrakoziden Kräfte allmählich restlos aus dem als Innenflüssigkeit dienenden anthrakoziden Kaninchenserum verschwinden. Um den Zusammenhang von Kochsalz und anthrakoziden Kräften zu studieren, wurde anthrakozides Kaninchenserum gegen 0,59proz. und 0,42proz. Kochsalzlösung dialysiert. Dabei treten die anthrakoziden Kräfte in der Außenflüssigkeit (Kochsalzlösung) auf und nehmen in der Innenflüssigkeit (anthrakozides Kaninchenserum) ab. Wird Innen- und Außenflüssigkeit im ursprünglichen Verhältnis gemischt, so treten in der Mischflüssigkeit die anthrakoziden Kräfte in der ursprünglichen Stärke wieder auf. Sind durch Erhitzen die anthrakoziden Kräfte ausgeschaltet, so treten bei Dialyse gegen Kochsalzlösung in dieser keine anthrakoziden Kräfte auf. Wenn man mit 0,42proz. Kochsalzlösung arbeitet (dieser Gehalt des Serum wurde durch Titration mit Silbernitrat festgestellt), dann muß die wachstumshemmende Wirkung der hypotonischen Kochsalzlösung durch Zusatz von unwirksamem Serum ausgeglichen werden. Aus diesen Dialyseversuchen geht hervor, daß die anthrakoziden Kräfte nicht an das Kochsalz gebunden sind, wie es Buchner (2) annahm für die bakteriziden Kräfte des Serums gegen Typhusbazillen. Es scheint also hier ein Unterschied in der Bakterizidie gegen die grampositiven und die gramnegativen Bakterien vorzuliegen.

Auch an das Eiweiß scheinen die anthrakoziden Kräfte nicht gebunden zu sein, denn bei allen anthrakozide Kräfte enthaltenden Außenflüssigkeiten in den Dialyseversuchen war die Kochprobe, die Hellersche Probe und die Biuretreaktion auf Eiweiß negativ.

Weitere Untersuchungen um das Wesen der Anthrakozidie, nunmehr aber auch das Wesen der Baktericidie in dem verschiedenen Verhalten gegenüber grampositiven und gramnegativen Bakterien zu erforschen, sind im Gange.

Literaturverzeichnis

1) Gruber und Futaki, Dtsch. med. Woch. 1907. Nr. 39. — 2) Buchner, Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Abt. I. Orig. Bd. 6. S. 561.

---

44. P. Manteufel (Berlin-Dahlem):

Bemerkungen zu dem Ergebnis der bisherigen Untersuchungen betr. Abänderung der amtlichen Anleitung für die Ausführung der Wassermannschen Reaktion.

Auf Grund der während des Krieges im Heeresdienst gemachten Erfahrungen wurde bekanntlich nach längerer praktischer Erprobung durch einen Sachverständigenausschuß in der Reichsgesundheitsrats-

sitzung vom 11. Juli 1919 eine „amtliche Anleitung für die Ausführung der WaR." festgestellt und am 1. Januar 1920 in Preußen und den meisten übrigen Ländern Deutschlands als maßgeblich für die sog. gewerbsmäßige Vornahme dieses Verfahrens eingeführt. Verschiedene Punkte dieser Anleitung haben im Laufe der Jahre scharfe Kritik erfahren, so daß sich der Reichsgesundheitsrat veranlaßt gesehen hat, die an der praktischen Erprobung der amtlichen Anleitung beteiligt gewesenen Sachverständigen, deren Kreis sich natürlich nur in beschränktem Umfange erweitern läßt, zu einer Nachprüfung darüber zu veranlassen, inwieweit nach dem Fortschritt der Wissenschaft eine Abänderung der Anleitung notwendig ist. Diese Nachprüfung ist im Gange und hat eine Reihe von dankenswerten Anregungen gegeben. Zurzeit sind sie aber noch nicht so weit gediehen, daß ein abschließendes Urteil über das Ergebnis möglich ist.

Wenn ich trotzdem schon jetzt die gebotene Gelegenheit benutze, gewisse Fragen, die sich aus diesen Untersuchungen ergeben haben, einem größerem Kreise vorzutragen, so geschieht es in dem Wunsche, daß alle Stellen, die an einer befriedigenden Regelung der Angelegenheit interessiert sind, Gelegenheit finden, sich zur Sache zu äußern. Die Vereinbarung einer für das ganze Reich verbindlichen Methodik für die WaR. hat natürlich zur Voraussetzung, daß überall der gute Wille besteht, die entgegenstehenden Schwierigkeiten zu beseitigen. Solange jeder Untersucher aber auf dem Standpunkte verharrt, daß seine eigene Methodik die beste und einzig richtige sei, wird die Anleitung auch in Zukunft nichts anderes bleiben als eine Vorschrift, die dazu da ist, daß sie umgangen wird.

Den Gang der amtlichen Anleitung darf ich hier als bekannt voraussetzen und gehe sogleich auf die einzelnen Punkte ein:

1) Beanstandet worden ist die Methodik bei der Feststellung der Ambozeptor-Gebrauchsdosis, wie sie im Versuch B der Anleitung dargestellt ist. Das Prinzip dieses Vorversuches besteht darin, daß parallel mit der Auswertung des Ambozeptors (Vorversuch A) eine zweite Titerbestimmung vorgenommen wird, bei der man vorher das im Vorversuch A verwendete Komplement $^3/_4$ Stunden lang der antikomplementären Extrakteinwirkung aussetzt. Es besteht jetzt eine bemerkenswerte Uebereinstimmung darin, daß sich diese Methodik der Feststellung der Ambozeptorgebrauchsdosis nicht bewährt hat, indem nämlich infolge der antikomplementären Extraktwirkung häufig bereits in der Ausgangsverdünnung der Ambozeptortiterreihe von $^1/_{100}$ die Hämolyse gehemmt wird. In diesen Fällen gestattet also der Vorversuch B überhaupt keine Ablesung, und da man aus den Versuchen von Kaup weiß, daß die antikomplementäre Wirkung der Extrakt-Serumgemische, wie sie im Hauptversuch in die Erscheinung tritt, in der Regel weit geringer ist als die der Extrakte allein, so ist zuzugeben, daß der Vorversuch B keinen richtigen Maßstab liefert. Dabei muß zunächst unentschieden bleiben, ob die Schwierigkeiten beim Vorversuch B, die früher anscheinend nicht in dem Maße bestanden haben, darauf beruhen, daß die bei der WaR. benutzten Extrakte im Laufe der letzten Jahre stärker antikomplementär geworden sind, oder ob die Komplementarmut der Meerschweinchensera zugenommen hat. Beides wäre möglich.

2) Auch das in der Anleitung vorgesehene Arbeiten mit der 5-proz. Komplementverdünnung ($^1/_{20}$) hat Anlaß zu Schwierigkeiten gegeben,

indem diese Komplementmenge an vielen Stellen bei Verwendung der aus dem Vorversuch A ermittelten 4fachen Ambozeptordosis überhaupt keine Titerfeststellung ermöglicht. Man ist dann gezwungen, lediglich mit der 10-proz. Komplementverdünnung zu arbeiten, und da diese Notwendigkeit sich nicht ausnahmsweise, sondern sehr häufig ergibt, wird der beabsichtigte Zweck, nämlich ein paralleles Auswerten der zu untersuchenden Sera mit großem und kleinem Komplementüberschuß meistens verfehlt. An anderen Stellen sind solche Schwierigkeiten indes nicht aufgetreten, und dort wird die Weglassung der Hauptversuche mit der 5-proz. Komplementverdünnung als Nachteil empfunden.

3) Als dritter Vorversuch ist in der amtlichen Anleitung eine Auswertung des Komplements vorgesehen, die aber insofern nur fakultativer Natur ist, als die Komplementgebrauchsdosis des Hauptversuches nicht von dem Ergebnis der Auswertung abhängig gemacht wird; der Versuch soll nach dem Sinne der Anleitung nur einen Einblick gewinnen lassen, ob man ein stark oder schwach wirksames Komplement zur Verfügung hat. Auch dieser Vorversuch hat in der Praxis Beanstandung erfahren, erstens weil er nicht unter den Bedingungen des Hauptversuches abläuft, zweitens weil das Bedürfnis vorliegt, das Ergebnis der Komplementtitrierung durch Ermittlung einer minimalen Komplementdosis für den Hauptversuch nutzbar zu machen, und drittens ist eingewendet worden, daß die von $^1/_{10}$ auf $^1/_{20}$, $^1/_{40}$, $^1/_{80}$ und $^1/_{160}$ ansteigende Verdünnungsreihe viel zu große Spannungen aufweist, da die tatsächlich wirksamen Dosen meist zwischen $^1/_{10}$ und $^1/_{20}$ liegen.

Der Leitgedanke bei den Nachprüfungen war der, die in der Praxis aufgetretenen Mängel der Anleitung zu beseitigen, andererseits aber die Methodik durch Vorversuche und Kontrollen nicht mehr als unbedingt nötig zu belasten. Die Notwendigkeit, Arbeit und Material bei der gewerbsmäßigen Ausführung der WaR. einzusparen, wird nämlich vonseiten der Praxis nicht weniger betont als das Bedürfnis nach einer empfindlicheren Gestaltung der Reaktion. Im Sinne der Notwendigkeit einer Verfeinerung der Methodik ist auch das für die Beurteilung der WaR. im übrigen so günstige Ergebnis der Kopenhagener Serumkonferenz des Hygieneausschusses beim Völkerbund zu bewerten, während die Methodik der amtlichen Anleitung im Sinne v. Wassermanns bekanntlich auf das Hochtreiben der Empfindlichkeit mit Rücksicht auf eine mögliche Gefährdung der Zuverlässigkeit verzichtete.

A. Vereinfachung des Verfahrens.

Bereits Kaup hat die Ansicht gehabt, daß man bei Einhaltung seiner Technik auf die Verwendung mehrerer Extrakte verzichten könne, und daß in diesem Falle die Qualität der Extrakte eine verhältnismäßig untergeordnete Rolle spiele. Dieser Gedanke ist auch jetzt wieder zur Erwägung gestellt und dabei der Kompromißvorschlag gemacht worden, die Zahl der zu verwendenden Extrakte wenigstens von 3 auf 2 herabzusetzen; diese Lockerung der Sicherheitsmaßnahmen ließe sich dadurch ausgleichen, daß man sog. spezifische Extrakte verwendet oder solche, die anderweitig schärfer eingestellt sind. Dabei kann zunächst ganz dahingestellt bleiben, ob das Ausschlaggebende bei der Empfindlichkeit der Extrakte die Spezifität des Ausgangsmaterials (Luesleber) oder andere unspezifische Faktoren sind, die eine starke Bindungsfähigkeit der Extrakte begünstigen. Ob sich

eine derartige Auslese und Beschränkung auf Extrakte bestimmter Herstellungsart schon jetzt wird durchführen lassen, ist allerdings fraglich. Eine Berücksichtigung dieser noch ungeklärten Extraktfragen in der amtlichen Anleitung würde zur Voraussetzung haben, daß eine gewisse Einigkeit darüber besteht, auf welche Weise die wirksamsten Extrakte zu gewinnen sind, und welche Extrakte man von vornherein als weniger geeignet von der staatlichen Prüfung ausschließen könnte.

B. Verfeinerung des Verfahrens.

Den Bestrebungen, die Methodik der Anleitung empfindlicher zu gestalten, ist eine natürliche Grenze dadurch gezogen, daß die Zuverlässigkeit der Ergebnisse nicht darunter leiden darf. Eine Reihe von Autoren sucht dieses Ziel durch Auswertung des Komplements und das Arbeiten mit einem denkbar geringen Komplementüberschuß im Hauptversuch zu erreichen, die andere durch scharfes Einstellen der Extraktgebrauchsdosis auf eine einheitliche Komplementgebrauchsdosis.

1) Was zunächst die Auswertung des Komplements anlangt, so ist dabei die Voraussetzung zu machen, daß sich das Komplement während der Versuchsdauer auf einer stabilen Titerhöhe hält. Darauf kann man sich aber bei der üblichen Verwendung eines kurz vor Versuchsbeginn gewonnenen frischen Komplementserums nicht verlassen. Wenn man also auf eine genaue Komplementauswertung Wert legen will, dann muß man, worauf v. Wassermann aufmerksam macht, mit abgestandenem Meerschweinchenserum arbeiten, das bereits am Tage vor dem Versuch gewonnen und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt wird.

2) Nun hat sich aus den bisherigen Versuchen der befragten Sachverständigen der Eindruck ergeben, daß der Komplementgehalt des Meerschweinchenserums recht erheblichen Schwankungen unterliegt, zunächst insofern, als manche Untersuchungsstellen durchgängig oder wenigstens in der Regel über sehr schwaches Tierkomplement verfügen, während andere in der Regel ungleich wirksamere Komplemente in der Hand haben. Anstalten in ländlichen Gegenden oder mit anderweitig guten Futterverhältnissen scheinen dabei im Vorteil zu sein. Aber auch bei Tieren aus dem gleichen Stalle sind manchmal individuelle und jahreszeitliche Titerunterschiede festzustellen, die das eine Mal eine Mindestgebrauchsdosis, von 10proz., das andere Mal eine solche von 2proz. Verdünnung ergeben. Dieser letztere Fall, nämlich daß das Komplement noch in der Verdünnung $^1/_{50}$ brauchbar ist, stellt zwar nach unseren Erfahrungen eine seltene Ausnahme dar, aber an anderen Stellen scheint das nicht der Fall zu sein. Aus diesen Verhältnissen erklärt sich wohl zum Teil die bei den Nachprüfungen zutage getretene Unstimmigkeit darüber, ob das Arbeiten mit einer ausgewerteten kleinen Komplementdosis Vorteile gegenüber der Benutzung einer ein für alle Male gleichen Einheitsdosis bietet oder nicht. Eine Minderzahl von allerdings gewichtigen Stimmen hat keine Vorteile davon gesehen.

3) Die amtliche Anleitung in der gegenwärtigen Fassung glaubte dem Bedürfnis, auch mit einem geringen Komplementüberschuß im Hauptversuch zu arbeiten, dadurch genügen zu können, daß jedesmal einer der drei verwendeten Extrakte mit der 5proz. Komplement-

verdünnung angesetzt werden soll. Nachdem sich nun herausgestellt hat, daß die Meerschweinchensera häufig für die regelmäßige Verwendung dieser 5proz. Verdünnung zu komplementarm sind, ist der Vorschlag gemacht worden, statt der 5proz. eine $7^1/_2$proz. ($^1/_{15}$) zu nehmen. Dagegen ist meines Erachtens einzuwenden, daß diese Dosis an manchen Stellen in der Regel immer noch das wirksame Minimum übersteigt, während sie für die Stellen, die über komplementreiche Meerschweinchensera verfügen, unter Umständen noch einen erheblichen Ueberschuß bedeutet. So scheint es infolge des Bestehens derartig abweichender Komplementeinheiten ganz unmöglich, allen Bedürfnissen durch Festsetzung von einheitlichen Gebrauchsdosen in der amtlichen Anleitung gerecht zu werden.

Dazu kommt, daß man außer den Unterschieden im Komplementgehalt der Meerschweinchensera an sich mit einer recht verschiedenen Antikomplementärwirkung der einzelnen Extrakte zu rechnen hat. Wenn man Extrakte verschiedener Herkunft unter Zugabe von Normalserum auswertet, so kann man in einem Falle bereits mit 8proz. Komplement einen Umschlag in komplette Hämolysen-Hemmung feststellen, im andern erst bei Verwendung von 2 oder 3 Prozent. Es ist verständlich, daß bei stark antikomplementären Extrakten, die dem Komplement eine relativ geringere Wirkungsbreite übriglassen, das Arbeiten mit abgestuften Komplementdosen weniger das Ergebnis beeinflußt als bei Verwendung von schwach antikomplementären Extrakten mit großer Wirkungsbreite. Auch hieraus erklären sich sicherlich manche Meinungsunterschiede bezüglich der Notwendigkeit der Komplementtitrierung.

Die Sache liegt also meiner Ansicht nach so, daß man bei Verwendung von Extrakten mit starkem Eigenbedarf an Komplement, wozu ich beispielsweise das Cholesterin-Rinderherzextrakt von Sachs und das Original-Luesleberextrakt von Otto und Blumenthal rechnen möchte, ohne Ermittelung des jeweiligen minimalen Komplementbedarfs empfindliche Reaktionen erhalten dürfte, während man bei Extrakten mit geringem Komplementverbrauch, zu denen etwa das Extrakt von Bordet und Roulens gehört, zweckmäßig mit einer jeweils ausgewerteten kleinen Komplementdosis arbeiten muß. Grundsätzlich auf die jedesmal besondere Feststellung der Komplementgebrauchsdosis bei Verwendung bestimmter Extrakte zu verzichten, scheint mir aber unratsam zu sein, solange man die Differenzen im Komplementgehalt der Meerschweinchensera in den Kauf nehmen muß.

4) Auf welche Weise soll nun die Komplementauswertung erfolgen? Die bisherigen Nachuntersuchungen haben ergeben, daß die Mehrzahl der Untersuchungsstellen bei der Auswertung des Komplements, und zwar mit einer an die Methodik der amtlichen Anleitung angelehnten Versuchsanordnung empfindlichere Reaktionen erzielt hat als beim Arbeiten mit einer 10proz. Einheitsdosis. Gegen diese Methodik ist, wie gesagt, der Einwand erhoben worden, daß sie keinen zuverlässigen Maßstab liefert, weil sie unter andern Bedingungen arbeitet, als sie im Hauptversuch gegeben sind. Wenn man diesen Einwand als berechtigt anerkennt, so ergibt sich die Notwendigkeit, den Komplementtiter unter Berücksichtigung von Extrakt und negativem Serum zu ermitteln, wie es Kaup zuerst vorgeschlagen hat. Da der Begriff negatives Serum in dieser Verbindung eine unsichere Größe darstellt, ist von einer Seite (Pfeifer-Schwerin) der Vorschlag gemacht worden, mehrere als

negativ diagnostizierte Sera aus früheren Versuchen für diesen Vorversuch zu mischen. Die Methodik würde sich dann so gestalten, daß man die Gebrauchsdosis der zu verwendenden Extrakte mit diesem negativen Mischserum auf fallende Komplementdosen einwirken läßt und auf diese Weise den minimalen Komplementbedarf jedes einzelnen Extraktes ermittelt. Dabei kann sich für jedes Extrakt eine andere Komplementgebrauchsdosis ergeben.

Kaup arbeitet nun im Hauptversuch mit dem einfachen, $1^1/_2$-fachen, doppelten, 3- und 4fachen Komplementminimum, allerdings nur mit einem einzigen Extrakt. Bei der Verwendung mehrerer Extrakte stößt die Durchführung dieser Versuchsanordnung auf unerwünschte Schwierigkeiten und Mehrkosten. Das Arbeiten mit dem einfachen Komplementminimum hat nach meiner Ansicht darin einen Uebelstand, daß man bei dieser empfindlichen Einstellung gelegentlich mit uncharakteristischen Lösungshemmungen rechnen muß. Es ist daher der Vorschlag zu erwägen, statt des einfachen Minimums lieber einen kleinen Ueberschuß im Hauptversuch zu wählen, etwa so, daß man 3proz. Komplement benutzt, wenn das Minimum 2 Proz. beträgt. (Gaethgens).

5) Wenn die Benutzung eines möglichst geringen Komplementüberschusses in der amtlichen Anleitung Aufnahme finden soll, dann ist die bisherige Forderung, daß die Extraktkontrollen unter allen Umständen gelöst sein müssen, nicht mehr aufrecht zu erhalten. Wir wissen jetzt, daß die Extrakte allein in der Regel unverhältnismäßig stärker antikomplementär wirken als die Mischung von Extrakt und Patientenserum. Die Antikomplementärwirkung der Extrakte allein ist dabei nur mehr von theoretischem Belang und hat auf die Beurteilung des Hauptversuches eigentlich gar keinen Einfluß, so daß also die Extraktkontrollen bei geprüften Extrakten überflüssig werden (Blumenthal).

6) Es bliebe nun noch zu erwähnen, daß einzelne Autoren nach dem Vorgange von Jacobsthal und Graetz vorgeschlagen haben, die WaR. dadurch empfindlicher zu machen, daß man die Bindung nicht nur bei 37° vor sich gehen läßt, sondern auch bei niederen Temperaturen, da die Erfahrung gezeigt habe, daß manche Sera bei diesen niederen Temperaturen besser binden als bei 37°. Zeißler dehnt die Bindungszeit deshalb auf $1^1/_2$ Stunden aus und hält die Röhrchen zuerst eine halbe Stunde in Eiswasser, (etwa 6 Grad), dann eine halbe Stunde bei Zimmerwärme und schließlich eine halbe Stunde bei 37°. Es ist mir nicht bekannt, wie weit diese Methodik allgemein als berechtigt anerkannt ist und Eingang in die Praxis gefunden hat.

Es besteht ja wohl kaum die Aussicht, daß sich die Meinungsverschiedenheiten über die empfehlenswerteste Methodik bei der WaR. durch eine kurze Aussprache klären lassen. Ich wäre daher in Anbetracht der zur Verfügung stehenden kurzen Zeit dankbar, wenn mir die eine oder die andere Anregung, die sich aus diesen Bemerkungen ergeben sollte, mündlich oder schriftlich mitgeteilt werden könnte.

45. Poppe (Rostock):

Die Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung.

Der Zweck der bakteriologischen Fleischuntersuchung ist, die Gesundheit des Menschen zu schützen unter möglichster Erhaltung wirtschaftlicher Werte. Die Forderung auf Einführung einer bakteriologischen Fleischuntersuchung steht daher mit den im letzten Drittel des vergangenen Jahrhunderts aufgetretenen Fleischvergiftungen, die häufig zu Massenerkrankungen geführt haben, in engster Beziehung. Wenn auch früher schon derartige Erkrankungen nach Fleischgenuß vorgekommen sind, so ist doch erst mit Beginn der bakteriologischen Forschung eine Klärung des ursächlichen Zusammenhangs möglich gewesen.

Bereits im Jahre 1876 hatte Bollinger auf die besonderen Gefahren hingewiesen, die der menschlichen Gesundheit durch Genuß von Fleisch von Tieren drohen, die an pyämischen und septikämischen Infektionen gelitten haben. Nachdem Bollinger und Gärtner das Wesen der Fleischvergiftungen richtig erkannt hatten, haben sich Basenau, Forster, v. Ostertag, Bongert, Glage, Max Müller — um nur einige Namen zu nennen — für die allgemeine Einführung der bakteriologischen Fleischuntersuchung eingesetzt.

Daß trotz Nahrungsmittel- und Fleischbeschaugesetzgebung immer wieder Fleischvergiftungen vorkommen, lehren die in den letzten Jahren beobachteten Fleischvergiftungsepidemien. Um die Frage der Zweckmäßigkeit und Notwendigkeit der bakteriologischen Fleischuntersuchung richtig bewerten zu können, ist eine kurze Uebersicht über die Kasuistik nicht zu entbehren. Unter Benutzung des durch v. Ostertag gesammelten Quellenmaterials aus den Jahren 1866—1919 hat Standfuß 113 Fleischvergiftungsepidemien mit etwa 8000 Einzelerkrankungen zusammengestellt. Von diesen Fleischvergiftungen sind 64 mit etwa 3000 Erkrankungen ohne Todesfall verlaufen, während unter den übrigen 49 Epidemien mit etwa 5000 Einzelerkrankungen 99 Todesfälle verzeichnet sind. An der Hand dieser Zusammenstellung berechnet Standfuß die Mortalität auf 1,23 Proz., womit die Angabe v. Ostertags mit 1,2 Proz. Todesfällen fast übereinstimmt. Während sich diese Zusammenstellungen auf einzelne besonders bemerkenswerte Fleischvergiftungen beschränken, hat Kuppelmayr den Versuch gemacht, eine genaue Uebersicht über die während der letzten 10 Jahre zur amtlichen Kenntnis gelangten Fleischvergiftungen zu geben. Diese Zusammenstellung, die unter Benutzung der auf Grund des Rundschreibens des Staatssekretärs des Innern vom 18. Dezember 1890 dem Reichsgesundheitsamt zugegangenen Angaben aufgestellt ist, umfaßt 157 in den Jahren 1913—1922 festgestellte Fleischvergiftungen. Die Summe der dadurch bekannt gewordenen Erkrankungen betrug 12327 Erkrankungen mit 96 Todesfällen, wobei beachtenswert ist, daß die Zahl der Erkrankungen im Jahre 1922 ungefähr das Fünffache der in dem Vorkriegsjahr 1913 bekannt gewordenen beträgt. Als Ursache der Fleischvergiftungen wurden in 61 Fällen = 40 Proz. mit 7208 Erkrankungen (58 Proz.) der Bac. paratyphosus B, in 19 Fällen = 12 Proz. mit 1660 Erkrankungen (13 Proz.) der Bac. enteritis Gärtner, in 2 Fällen mit 121 Erkrankungen Paratyphus B- und Gärtnerbazillen, in je einem Falle Bac. paratyphus B und B. coli (27 Erkrankungen) und Bac. paratyph. B. mit Bac. enteritis Breslau (190 Erkrankungen) und in 3 Fällen mit 236 Erkrankungen Bac. enteritis Breslau nachgewiesen. Die übrigen Fälle betreffen sonstige Erreger (Proteus, Coli, gasbildende und Fäulnisbakterien). Nach der Zusammenstellung v. Ostertags wurde unter 39 bakteriologisch näher bearbeiteten Fleischvergiftungen 22mal der Paratyphus B- und 17mal der Gärtnerbazillus gefunden. Nach Hübner, der in seiner Zusammenstellung auch die Nahrungsmittelvergiftungen (Hackfleisch, Wurst usw.) mit berücksichtigt wurden bei 66 Fällen 36mal der Paratyphus B- und 29mal der Gärtnerbazillus festgestellt. Standfuß gibt ferner an, daß unter 113 Fällen, worin aber die zeitlich vor der Entdeckung des Bac. enteritis Gärtner liegenden Fleischvergiftungen mit enthalten sind, 20 Fälle durch Paratyphus B- und 24 Fälle durch Gärtnerbazillen verursacht worden sind.

Nachdem die Erkenntnis vom Wesen der Fleischvergiftungen und die Klärung des ursächlichen Zusammenhangs gezeigt hatte, daß die makroskopische Fleischbeschau in manchen Fällen nicht ausreichend ist, um den Menschen vor Gesundheitsschädigungen zu schützen, wurde die Forderung auf Einführung einer allgemeinen bakteriologischen Fleischuntersuchung erhoben. Das damalige Königreich Sachsen ist in dieser Hinsicht vorbildlich gewesen und hat die bakteriologische Fleischuntersuchung seit dem 1. Januar 1909 eingeführt. Ein Wendepunkt trat ein, als auf Grund von Beratungen im Reichsgesundheitsrat im Kaiserlichen Gesundheitsamt und in der ständigen Kommisson für Fleischbeschauangelegenheiten allgemeine Vorschriften für die Handhabung der bakteriologischen Fleischuntersuchung beim Verdacht des Vorliegens einer eitrigen oder jauchigen Blutvergiftung, namentlich bei Notschlachtungen, aufgestellt wurden, die die Vornahme einer bakteriologischen Untersuchung empfehlen. Auf Grund der vom Reichsgesundheitsamt unter dem 12. Januar 1914 herausgegebenen Richtlinien wurde die bakteriologische Fleischuntersuchung in den meisten Ländern für bestimmte Fälle, vor allem für Notschlachtungen von Pferden, vorgeschrieben. Mit der Abänderung vom 10. August 1920 der Ausführungsbestimmungen A zum Reichsfleischbeschaugesetz ist dann die bakteriologische Fleischuntersuchung im Gesetz verankert worden, so daß ihrer Durchführung nichts im Wege steht.

Die hygienische Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung liegt im Schutze des Menschen vor Schädigungen durch den Genuß von Fleisch kranker Schlachttiere. Schon frühzeitig hatte man erkannt, daß die Notschlachtungen für die menschliche Hygiene besondere Gefahren in sich tragen, da es sich hierbei, abgesehen von Unglücksfällen, fast ausschließlich um schwerkranke oder in moribundem Zustand geschlachtete Tiere handelt. Nach v. Ostertag sind $^4/_5$ der im Anschluß an den Genuß von Fleisch aufgetretenen Massenerkrankungen auf Notschlachtungen zurückzuführen. Daß den Notschlachtungen eine besondere Gefährlichkeit zukommt, lehren auch die Beanstandungsziffern der notgeschlachteten Tiere, die ein Vielfaches der gewerblich geschlachteten Tiere betragen. Weiteres Material für die Notwendigkeit der Durchführung einer geordneten bakteriologischen Fleischuntersuchung geben die Zahlen über die Zunahme der Notschlachtungen. Besonders auffällig ist die Zunahme der Notschlachtungen bei Pferden im Zeitraum von 1910—1921 von 4,6 Proz. auf 26,1 Proz. im Jahre 1920 und 22,9 Proz. im Jahre 1921, wohingegen die Zunahme der Notschlachtungen bei Rindern von 1910 mit 1,9 Proz. auf 10,4 Proz. im Jahre 1920 und 3,6 Proz. im Jahre 1921 zurücktritt. Daß mit der Zunahme der Notschlachtungen bei Pferden auch die Gefährlichkeit des Fleisches gewachsen ist, beweisen die in den letzten Jahren nach dem Genuß von Pferdefleisch aufgetretenen Fleischvergiftungen. Auch die von Kuppelmayr ermittelten Zahlen bestätigen daß die meisten Fleischvergiftungen auf den Genuß von Pferdefleisch zurückzuführen sind. Gegenüber der Zahl der durch Pferdefleisch veranlaßten Fleischvergiftungen betragen die Zahlen bei Rindfleisch fast nur ein Drittel, bei Schweinefleisch etwa nur ein Siebentel, bei Kalbfleisch nur ein Sechsundzwanzigstel. Es wäre selbstverständlich zu weit gegangen, allein aus der Zunahme der Notschlachtungen auf eine Gefährlichkeit des Fleisches jedes einzelnen notgeschlachteten Tieres zu schließen. Die Tatsache muß aber als zu Recht bestehend anerkannt

werden, daß das Fleisch notgeschlachteter Tiere, vor allem notgeschlachteter Pferde, unter Umständen und beim Vorliegen gewisser Erkrankungen der Schlachttiere eine besondere Gefährlichkeit haben kann.

Die Erkrankungen der Schlachttiere, die eine besondere Schädlichkeit des Fleisches bedingen können, sind die unter dem Bilde der Septikämie verlaufenden schweren Krankheiten, während die Pyämie ohne Bedeutung ist. Als Veranlassung zu solchen septischen Infektionen des Fleisches kommen vor allem die septische Metritis und Enteritis bei Kühen, die Polyarthritis bei Kälbern, sowie Mastitis, Abszesse und jauchige Peritonitis in Betracht. In der Anweisung des Reichsgesundheitsamts zur Ausführung der bakteriologischen Fleischuntersuchung sind die im Anschluß an akute Entzündungskrankheiten auftretende eitrige und jauchige Blutvergiftung als besonders verdächtig aufgeführt worden. Die Frage, ob die Septikämie der Schlachttiere für die Entstehung von Fleischvergiftungen überhaupt von Bedeutung ist, wird von Max Müller bestritten. M. Müller verficht seit Jahren den Standpunkt, daß die Septikämie im Sinne Bollingers bei der fleischbeschautechnischen Beurteilung überhaupt keine Rolle als gemeingefährliche Krankheit spiele und daß lediglich der klinisch und pathologisch-anatomisch nicht sicher erkennbare spezifische Paratyphus der Schlachttiere mit vollvirulenten Paratyphusbakterien Infektionen beim Menschen hervorrufe. Solange der Begriff Paratyphus der Schlachttiere im Sinne Müllers aber nicht festliegt, wird seine Anwendung für die Fleischbeschau und für die bakteriologische Fleischuntersuchung nicht maßgebend sein können. Es darf jedoch nicht unbeachtet gelassen werden, daß bei Notschlachtungen der zu der Schwere der Erkrankung meist in keinem Verhältnis stehende geringgradige anatomische Befund als besonders suspekt angesehen und solche Fälle vom Ausfall der bakteriologischen Untersuchung abhängig gemacht werden müssen.

Eine Frage von besonderer Wichtigkeit für die bakteriologische Fleischuntersuchung ist die des primären Zusammenhangs der Gesundheitsschädlichkeit des Fleisches mit den Erkrankungen der Schlachttiere. Der Zusammenhang zwischen einer Erkrankung des Menschen und dem Fleischgenuß kann nur dann als gegeben angesehen werden, wenn die aus dem Erkrankten und die aus dem Fleische isolierten Bakterien sich in jeder Beziehung gleichartig verhalten und auch vom Patientenserum hoch agglutiniert werden. Eine intravitale Schädlichkeit des Fleisches ist nur dann anzunehmen, wenn nicht nur ein Fleischstück, sondern das Fleisch des ganzen Tieres Bakterien enthält, die mit den aus dem Erkrankten gezüchteten in allen Eigenschaften vollkommen übereinstimmen. Solange diese Forderung nicht voll und ganz erfüllt ist, ist es nicht angängig, die bei erkrankten Menschen gefundenen Bakterien in Beziehung zu bringen mit einer Infektion durch Fleisch, dessen Schädlichkeit dann meist a priori angenommen wird. Mithin sind unter Fleischvergiftungen nur solche Erkrankungen des Menschen zu verstehen, die durch den Genuß des Fleisches kranker Tiere hervorgerufen sind (intravitale Infektion). Die durch postmortale Infektion des Fleisches verursachten Hackfleisch- und Nahrungsmittelvergiftungen, die in der Regel auf Ausscheidungen von Menschen zurückzuführen sind, fallen nicht hierunter.

Die bakteriologische Fleischuntersuchung hat in hygienischer Beziehung den Zweck, Krankheitserreger, in erster Linie Bakterien der Paratyphus-Enteritisgruppe, auszuschließen und die Genußtauglichkeit

eines Schlachttieres zu beweisen. Demgemäß ist eine strenge Kritik bei der Einteilung der Fleischvergiftungsbakterien durchaus am Platze, um die um sich gegriffene Verwirrung zu lösen. Es ist Bitter durchaus beizupflichten, wenn er es ablehnt, die durch Bakterien der Paratyphus-Enteritisgruppe bedingten Krankheiten des Menschen und der Tiere allgemein als Paratyphus zu bezeichnen. Für die bakteriologische Fleischuntersuchung ist daher die Feststellung von Bitter wichtig, daß die Paratyphus- und Enteritisbakterien als etwas Verschiedenes anzusehen sind.

Für die Beurteilung der Befunde der bakteriologischen Fleischuntersuchung ist einerseits maßgebend das Vorkommen von Fleischvergiftungsbakterien im Fleisch, und andererseits der Keimgehalt des Fleisches. Während früher jedes mehr oder weniger keimhaltige Fleisch als verdächtig dem Konsum entzogen wurde, haben die neueren Erfahrungen gelehrt, daß ein geringer Gehalt an saprophytischen Keimen eine Schädlichkeit nicht bedingt und solches Fleisch nicht als gesundheitsgefährlich anzusehen ist. Werden in den Fleisch- oder Organproben Fleischvergiftungsbakterien gefunden, so ist die Blutvergiftung als festgestellt und der ganze Tierkörper als untauglich zum Genuß für Menschen zu bezeichnen. Werden durch die bakteriologische Untersuchung zwar keine Fleischvergiftungsbakterien, aber zahlreiche andere Bakterien in den Fleischproben nachgewiesen, so ist der Tierkörper als untauglich infolge vorgeschrittener Fäulnis oder ähnlicher Zersetzungsvorgänge zu beurteilen. In allen anderen Fällen ist die endgültige Beurteilung des Fleisches auf seine Genußtauglichkeit dem Tierarzt nach dem Ergebnis der Schlachtvieh- und Fleischbeschau in Verbindung mit dem Ergebnis der bakteriologischen Untersuchung vorbehalten. Die Zweckmäßigkeit dieser Beurteilungsgrundsätze, die im Jahre 1914 vom Reichsgesundheitsamte als richtunggebend aufgestellt wurden, ist auch heute noch voll anzuerkennen. Die weitere Durchführung der bakteriologischen Fleischuntersuchung hat jedoch gezeigt, daß im besonderen bei Kälbern der Nachweis von Fleischvergiftungsbakterien, falls sie nur in den Organen (miliare Nekrosen) vorhanden sind, eine mildere Beurteilung zuläßt, vorausgesetzt, daß das Fleisch als frei von Fleischvergiftungsbakterien sich erweist. Der ganze Tierkörper ist in diesem Falle nach den abgeänderten Ausführungsbestimmungen A als bedingt tauglich anzusehen, d. h. das Fleisch kann in gekochtem Zustande zum Konsum zugelassen werden. Die Erfahrung hat nämlich ergeben, daß das Fleisch von solchen Kälbern als unschädlich zu betrachten und sogar in rohem Zustande ohne Nachteil verzehrt worden ist. Diese wissenschaftlich begründete Milderung kann daher im wirtschaftlichen Interesse nur gutgeheißen werden.

Die wirtschaftliche Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung liegt darin, dem Volksvermögen Werte zu erhalten, die sonst der Vernichtung anheimfallen. Der von Bollinger im Jahre 1876 vertretene Standpunkt besteht in Hinsicht auf die wirtschaftliche Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung auch heute noch zu Recht, daß „die menschliche Hygiene das größte Interesse daran hat, daß auch die Menge der Fleischnahrung, die der Bevölkerung, namentlich der ärmeren, zu Gebote steht, gebührend berücksichtigt wird. Wenn wir mit Zahlen nachweisen könnten, wie viele Menschen indirekt infolge ungenügender Ernährung, besonders einer mangelhaften Fleischnahrung, zugrunde gehen, so würden wir ein viel höheres Prozent-

verhältnis bekommen, als es beim Genuß des Fleisches von kranken Tieren der Fall ist.“ Diese Worte haben für die Zeit nach dem Weltkrieg für das deutsche Volk eine Bedeutung erlangt, die Bollinger fast in prophetischem Geist vorausgeahnt zu haben scheint. Während im Jahre 1923 der jährliche Fleischverbrauch auf den Kopf der Bevölkerung einschließlich der Einfuhr aus dem Ausland betragen hat 40,26 kg, war der Verbrauch im Jahre 1919 gesunken auf 16,87 kg. Es ist daher Pflicht der Fleischhygiene, Mittel und Wege zu suchen, damit alles Fleisch, das früher wegen seiner zweifelhaften Beschaffenheit oder mangels sachgemäßer Untersuchungsmethoden unnützerweise dem Verkehr entzogen wurde, der Allgemeinheit erhalten wird, selbstverständlich ohne die Gefahr der Gesundheitsschädigung damit zu vergrößern. Die bakteriologische Fleischuntersuchung ist gerade berufen, zur Erhaltung der im Fleisch liegenden wirtschaftlichen Werte im Interesse der Volksernährung beizutragen.

Die wirtschaftliche Aufgabe der bakteriologischen Fleischuntersuchung hat im besonderen darin zu bestehen, eine bessere Verwendung vieler Notschlachtungen durchzuführen und in dieser Beziehung die gewöhnliche Fleischbeschau zu ergänzen. Es muß aus genannten Gründen danach gestrebt werden, daß ein Tier auf den bloßen Verdacht der Blutvergiftung hin nicht als untauglich bezeichnet wird. Auch die Landwirtschaft hat ein nicht geringes Interesse daran, daß die bakteriologische Fleischuntersuchung so durchgeführt wird, daß die Landwirtschaft vor erheblichen und häufig ungerechtfertigten Schäden bewahrt wird.

Ueber die wirtschaftlichen Werte, die dem Volksvermögen verloren gehen, geben die Ergebnisse der Schlachtvieh- und Fleischbeschau im Deutschen Reich hinsichtlich der Beanstandungen wegen Blutvergiftung genaue Auskunft. Von 1000 beschauten Kühen wurden wegen Blutvergiftung beanstandet im Jahre 1913: 4,9, im Jahre 1919: 5,3; von 1000 beschauten Pferden 4,8 bzw. 10,7. Für Sachsen hat sich die beachtenswerte Tatsache feststellen lassen, daß mit der Einführung der bakteriologischen Fleischuntersuchung (1. Januar 1909) die Beanstandungsziffer von 9,2 pro mille im Jahre 1908 auf 2,3 pro mille im Jahre 1910 und dann noch weiter gesunken ist.

Der wirtschaftliche Nutzen der bakteriologischen Fleischuntersuchung ergibt sich aus der Zahl der Tierkörper, die durch diese Untersuchung erhalten werden. Für den Zeitraum 1914—1922, für den eine Statistik besteht, hat das Reichsgesundheitsamt an Hand der von den einzelnen Ländern übermittelten Berichterstattung, woran sich zunächst 7, dann 9, zuletzt 11 Länder (Preußen, Sachsen, Württemberg, Baden, Thüringen, Hessen, Mecklenburg-Schwerin, Braunschweig, Anhalt, Hamburg, Bremen) beteiligt haben, folgende Zahlen zusammengestellt. Fleischvergiftungsbakterien wurden in diesem Zeitraum ermittelt bei Pferden in 3,3 Proz., Rindern in 2,8 Proz, Kälbern in 9,5 Proz., Schweinen in 3,3 Proz., Schafen in 3,1 Proz. und Ziegen in 0 Proz. der untersuchten Tierkörper. Auf Grund des Ausfalls der bakteriologischen Untersuchung — bakterienfrei oder vereinzelte Bakterien, aber keine Fleischvergifter — konnten als unverdächtig in den Verkehr gegeben werden von den untersuchten Pferden 79,8 Proz., Rindern 80,4 Proz., Kälbern 71,2 Proz., Schweinen 75 Proz., Schafen 79,4 Proz. und Ziegen 83,4 Proz. Demnach sind 70—80 Proz. der untersuchten Tierkörper als volltauglich und genußfähig zu bezeichnen

gewesen. Werden die jeweiligen Durchschnittsschlachtgewichte für Berlin zugrunde gelegt, so ergibt sich, daß in dem Zeitraum 1914 bis 1922 an Pferdefleisch 1365884 kg, an Rindfleisch 4372300 kg, an Kalbfleisch 114080 kg, an Schweinefleisch 175695 kg, an Schaffleisch 3916 kg und an Ziegenfleisch 1936 kg dem Verbrauch zugeführt werden konnten. An Geldwert entspricht die Gesamtsumme des erhaltenen Fleisches bei Umrechnung in Goldmark, bezogen auf die Fleischpreise in Berlin (1914), etwa 10 Millionen Goldmark. In dieser Beziehung sind die in Sachsen bei der Durchführung der staatlichen Schlachtviehversicherung gemachten Feststellungen besonders lehrreich. In Sachsen sind in den Jahren 1909—1920 von der staatlichen Schlachtviehversicherung an tatsächlichen Entschädigungen 583688 M. gezahlt worden; 1242046 M. hätten aber gezahlt werden müssen, wenn die Tierkörper ohne bakteriologische Untersuchung allein auf Grund der makroskopischen Untersuchung für untauglich erklärt worden wären. Die Schlachtviehversicherung hat mithin an Auszahlungen 658358 M. gespart; außerdem ist ein Mehr an Fleisch von 47 Proz. dem Verbrauch erhalten worden.

Die Durchführbarkeit der bakteriologischen Fleischuntersuchung liegt durchaus im Bereich der Möglichkeit. Die Frage der Durchführung ist dadurch entschieden, daß fast alle deutschen Länder die bakteriologische Fleischuntersuchung auf dem Verordnungswege eingeführt haben. Die Organisation einer möglichst allgemein durchgeführten bakteriologischen Fleischuntersuchung ist dahin auszubauen, daß die Untersuchung nicht einzelnen wenigen, sondern möglichst vielen geeigneten Stellen übertragen werden.

Die Technik der bakteriologischen Fleischuntersuchung ist die in der Bakteriologie allgemein übliche. Nach den vom Reichsgesundheitsamte herausgegebenen „Anweisungen zur Ausführung der bakteriologischen Fleischbeschau" sind zur Untersuchung zu entnehmen: je ein würfelförmiges, von Faszien gut eingeschlossenes Stück Muskelfleisch von 6—8 cm Seitenlänge vom Unterarm und Unterschenkel, je eine Fleischlymphdrüse aus den anderen beiden Vierteln, die Milz, eine Niere oder ein kürzerer Röhrenknochen sowie gegebenenfalls Teile, welche besondere Veränderungen aufweisen, wie Blutungen, Infiltrationen u. dergl. Die Entnahme hat möglichst unter aseptischen Kautelen, jedenfalls aber mit größter Sauberkeit zu erfolgen. Bei der Verpackung der zum Versand bestimmten Proben ist dafür zu sorgen, daß die einzelnen Stücke trocken bleiben und nicht durch Saftaustritt postmortale Zersetzungen begünstigt werden. Auch ist jedes Stück zur Vermeidung gegenseitiger Verunreinigung getrennt zu verpacken. Als Kulturverfahren kommen wie bei der Typhusdiagnose die gefärbten Nährböden zur Verwendung: Conradi- Drigalski-, Endo- und Malachitgrünplatten; der Gaßnersche Dreifarbennährboden hat sich neuerdings besonders bewährt. Daneben werden steril aus dem Muskelfleisch entnommene Proben nach Anreicherung in Bouillon (12—18 Stunden) auf gleiche Weise verarbeitet und außerdem Anaërobenkulturen angelegt. Die auf den Platten etwa zur Entwicklung gekommenen verdächtigen Kolonien werden der Probeagglutination mit Paratyphus B-, Enteritis Breslau- und Enteritis Gärtner-Serum unterworfen. Auf diese Weise ist es möglich, 18—24 Stunden nach dem Eintreffen der Proben im Laboratorium zum Ergebnis zu kommen. Eine möglichst schnelle, dabei aber einwandfreie Differenzierung ist notwendig, damit das Er-

gebnis so rechtzeitig hinausgeht, bevor die Tierkörper, die auf dem Lande meist nicht zweckentsprechend aufgehoben werden können, der Zersetzung anheimfallen. Die als Fleischvergifter erkannten Kolonien werden nachträglich auf ihr biochemisches Verhalten in der üblichen Weise geprüft.

Zusammenfassend ist zu sagen, daß die bakteriologische Fleischuntersuchung, wie die jetzt für einen Zeitraum von 10 Jahren vorliegenden Ergebnisse gezeigt haben, sich vom hygienischen Standpunkt innerhalb der ihr gezogenen Grenzen bewährt hat. Die bakteriologische Fleischuntersuchung hat dazu beigetragen, die Fleischbeschau zu vervollkommnen und eine größere Sicherheit in die Beurteilung zu bringen. Wenn in etwa 97 Proz. der Fälle die Untersuchung negativ ausfällt, so liegt hierin kein Nachteil, denn in hygienischer Beziehung ist, was den Schutz des Menschen anbelangt, die Ermittelung von etwa 3 Proz. positiven Fällen höher zu bewerten als die negativen. Es muß nun Sache der einzelnen Länder sein, auf Grund der gesammelten Erfahrungen die Durchführung und Handhabung der bakteriologischen Fleischuntersuchung nach den jeweiligen Bedürfnissen weiter auszubauen.

Die bakteriologische Fleischuntersuchung muß den Schutz des Menschen vor Gesundheitsschädigungen zum Ziele haben. Neben dieser prophylaktischen Aufgabe darf aber der wirtschaftliche Zweck nicht vernachlässigt werden. Beide Ziele lassen sich aber in Einklang bringen, wenn die bakteriologische Fleischuntersuchung möglichst allgemein eingeführt und sachgemäß gehandhabt wird. Aufgabe der bakteriologischen Fleischuntersuchung muß es daher sein und bleiben: Die Gesundheit des Menschen zu schützen unter möglichster Verwertung des Fleisches kranker Tiere; was ohne Bedenken genießbar ist, darf dem Genusse nicht entzogen werden (Gerlach).

---

46. v. Wasielewski (Rostock):

Gesetzliche Handhaben der Typhus-Bekämpfung.

(Mit 4 Abbildungen im Text.)

Der Ausbau der gesetzlichen Handhaben der Typhus-Bekämpfung ist in Deutschland nicht in dem Umfang gelungen, wie ihn die Erfolge der auf Vorschlag Robert Kochs ins Leben gerufenen offensiven Typhus-Bekämpfung im Südwesten des Reiches sowie deren Fortsetzung im Weltkrieg gerechtfertigt hätten.

Schon lange war von den Sachverständigen die Anzeigepflicht des Typhusverdachtes gefordert worden. Bekanntlich mußte jedoch Preußen auf die bereits 1905 vom Abgeordnetenhaus angenommene Anzeigepflicht der Verdachtsfälle wegen Einspruch des Herrenhauses verzichten, um nicht die Annahme des Gesetzes betreffend Bekämpfung übertragbarer Krankheiten zu gefährden.

Auch die von Rimpau 1921 vorsichtig zusammengefaßten Forderungen deutscher Medizinalbeamter enthielten die reichseinheitliche Regelung der Typhusverdachtsmeldung. Trotz einstimmiger Annahme und trotz der Zusicherung, daß das Reich ein Gesetz im Sinne derselben vorbereite, gelangte dasselbe bisher nicht zur Verabschiedung.

Inzwischen haben aber wohl die Typhusausbrüche der letzten Jahre zur Genüge dargelegt, daß wir die Gefahren, die uns von dieser leicht ausrottbaren Heimseuche drohen, nicht unterschätzen dürfen. Gewiß soll man sie auch nicht überschätzen: erfahrungsgemäß rütteln sie das Gewissen der Volksvertretungen wie der Behörden etwas auf und erleichtern die Beseitigung von gesundheitlichen Mißständen.

Viel bedenklicher sind die endemischen Seuchenherde, in denen man sich zu leicht an die regelmäßige Wiederkehr von Typhuserkrankungen gewöhnt und um so schwerer zu planmäßiger Sanierung entschließt. Und doch bilden sie gerade die Ausgangspunkte von Massenerkrankungen, die Deutschlands durch Not und Elend heruntergebrachten Volkskörper beunruhigen und schwächen.

Typhuserkrankungen in Rostock Stadt.

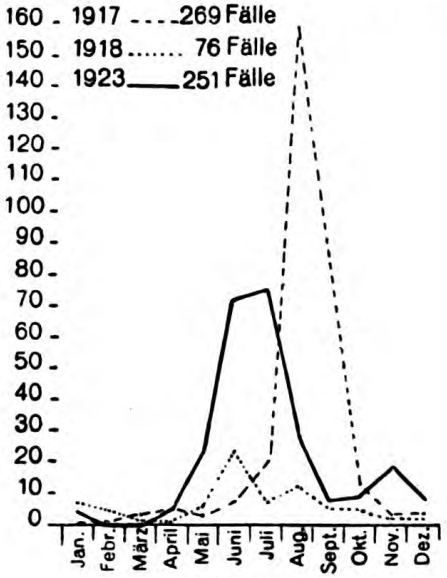


Fig. 1.

Typhuserkrankungen auf je 100 000 Lebende.

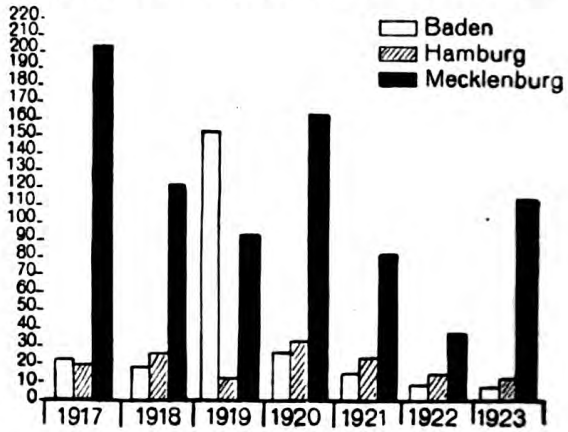


Fig. 2.

Ein solcher endemischer Herd befindet sich im Stadt- und Landbezirk Rostock. Hier kommt Unterleibstyphus mit geringen Schwankungen in der Häufigkeit seit Jahrzehnten vor und läßt von Zeit zu Zeit stärkere Epidemien aufflackern. Eine im Jahre 1917, im Anschluß an Milchinfektionen einsetzende Typhushäufung (Fig. 1) schien zunächst rasch beseitigt; die in den Jahren 1918—1922 amtlich gemeldeten Jahreszahlen schwanken zwischen 26—76. Stadt und Land tauschten ihren Typhus aus, und fast schien es, als ob die Bevölkerung genügend durchseucht sei, um besondere Bekämpfungsmaßregeln entbehren zu können.

Da entwickelte sich 1923 verhältnismäßig früh im Jahre eine Kontaktepidemie, die anfangs unbeachtet blieb und deren Umfang erst ermittelt werden konnte, als der Kreisarzt Ende Juni entsprechende Hilfskräfte heranzog. Dabei ergab sich, daß

im April	5	im Juni	71
im Mai	25	im Juli	73

im ganzen Jahr 251 Erkrankungen amtlich festgestellt werden konnten,

die sich in ärztlicher Behandlung befanden. Wahrscheinlich waren die Erkrankungsziffern in Wirklichkeit erheblich höher.

Diese Feststellungen veranlaßten einen Vergleich der Typhuszahlen Mecklenburgs und einiger anderer Gebiete Deutschlands seit 1917. Zunächst wurden die Erkrankungszahlen Badens und Hamburgs berücksichtigt (Fig. 2). Dabei ergab sich, daß Baden nur während der schweren Pforzheimer Wasserleitungsepidemie (mit 4000 Erkrankungen) die hohen Jahresziffern erreichte, die in Mecklenburg fast Jahr für Jahr festgestellt wurden. Weiter ging aus diesen Zahlenreihen hervor, daß neben dem Medizinalbezirk Rostock auch andere Landesteile von Typhus auffallend heimgesucht sein müssen. Denn in den Jahren 1918—1922 kam ja in Rostock nur wenig Typhus zur Meldung. Trotz dessen übertrafen die Zahlen Mecklenburgs diejenigen von Hamburg und Baden in der Regel um ein Vielfaches.

Nun leuchtet ja ohne weiteres ein, daß die Gesundheitsverhältnisse in Landbezirken Mecklenburgs nicht ohne Vorbehalt mit Hamburg und Baden verglichen werden dürfen. Wahrscheinlich gibt es auch außerhalb Mecklenburgs Landbezirke, die ähnlich unter Typhus leiden. Es gelang bisher nicht, entsprechende Zahlen festzustellen [1]).

Immerhin zeigen diejenigen Gliedstaaten, die Typhusverdacht an-

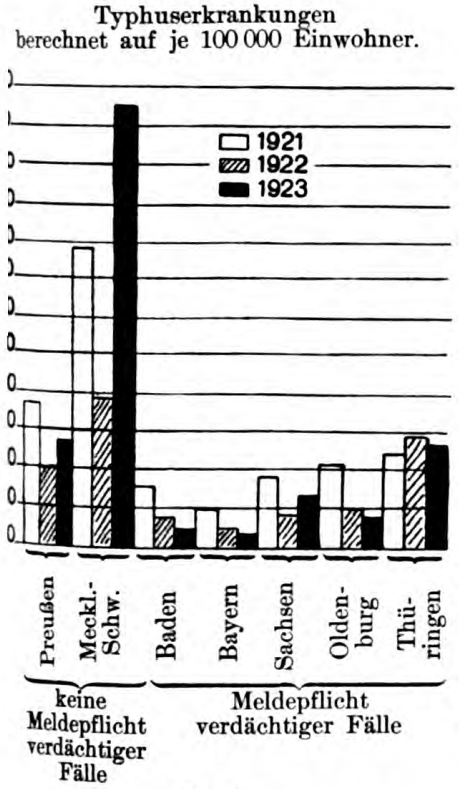


Fig. 3.

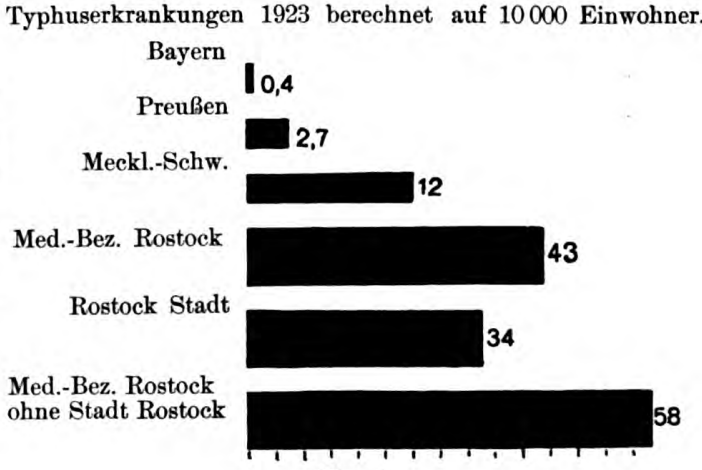


Fig. 4.

zeigepflichtig gemacht haben, einen starken Rückgang der Typhuserkrankungen (Fig. 3). Selbst wenn man von Baden, Bayern und Sachsen absieht, die seit längerer Zeit planmäßig Typhus bekämpfen, fällt ein Vergleich zwischen Mecklenburg und Oldenburg, die beide vorwiegend Landwirtschaft treiben, sehr zugunsten Oldenburgs aus, wo die Anzeigepflicht für Typhusverdacht besteht.

Wenn Thüringen sich trotz der Verdachtsanzeigen wenig von Preußen abhebt, so sind hierfür die eigenartigen Bodenverhältnisse ver-

1) Anm. bei der Korrektur: Inzwischen sind solche in der Schrift: Das Gesundheitswesen des preußischen Staates im Jahre 1922. (Berlin 1924, Verlag R. Schoetz) veröffentlicht worden.

antwortlich zu machen, die die Typhusausbreitung begünstigen und die Bekämpfung erschweren. Vielleicht kommen in den preußischen Zahlen der Jahre 1922/23 schon die günstigen Wirkungen seiner neuen Desinfektionsordnung zum Ausdruck.

Jedenfalls bestärken diese Zahlen den Eindruck, daß wir in der Verdachtsanzeige des Typhus ein wertvolles Hilfsmittel zu seiner Bekämpfung besitzen. In Landbezirken, in denen noch seltener als in Großstädten der Arzt zu Typhusverdächtigen gerufen wird, sollte die Anzeigepflicht auf die im Reichsseuchengesetz dazu Verpflichteten ausgedehnt werden.

Wenn dann entsprechend den vom Medizinalbeamtentag 1921 einstimmig angenommenen Leitsätzen Rimpaus auch das Ermittlungs- und Desinfektionswesen reichseinheitlich geregelt, ferner eine Verschärfung der Bestimmungen über Probeabgabe und Auskunftspflicht im Sinne Hages (1923) erreicht wird, dann dürfen wir hoffen, daß die Amtsärzte überall in Deutschland ihren Aufgaben erfolgreicher entsprechen können.

Freilich gilt es — und auch das ist wiederholt ausgesprochen —, diesen verantwortlichen Trägern der Seuchenbekämpfung durch den, Ausbau der hygienischen Volksbelehrung in der Presse und in den Schulen ihr schweres Amt zu erleichtern. Hierbei können Zahlen über den Umfang der Wirtschaftsschäden von Typhusepidemien das Verständnis fördern. Es ist schwer, diese während der Inflationszeit genau zu bestimmen.

Schätzen wir aber einmal (Fig. 4) die von 100000 Bayern im Jahre 1923 für 4 Typhuskranke aufzubringenden Kosten auf 1000 Goldmark, so haben in derselben Zeit

100000 Preußen das 6fache,

100000 Mecklenburger aus dem Bezirk Rostock-Land das 145fache

der Typhusseuche opfern müssen, ohne daß dabei die durch Todesfälle, Arbeitsausfall und Störungen des Geschäftslebens bedingten Verluste eingerechnet sind.

Derartigen Betrachtungen sind heute weite Volkskreise, jedenfalls zahlreiche Volksvertreter aller Parteirichtungen zugänglich.

Vor allem aber müssen wir die Ueberzeugung im Volke verbreiten:

Unterleibstyphus ist eine vermeidbare Schmutzkrankheit, vor der zwar in verseuchten Ländern der Einzelne nur durch Schutzimpfung bewahrt werden kann.

Aber jedes Land kann sich durch den Ausbau seiner Gesundheitsgesetze auch von endemischem Typhus befreien, wenn die gesetzlichen Handhaben in den folgenden Punkten verschärft werden:

Die Typhusbekämpfung bedarf reichseinheitlicher Maßnahmen:

1. Ausdehnung der Anzeigepflicht
   a) auf Typhusverdacht,
   b) auf die im Gesetz vom 30. 6. 1900 Anzeigepflichtigen.
2. Regelung
   a) der laufenden Desinfektion am Krankenbett,
   b) der Krankenhausabsonderung,
   c) der Bazillenträger-Ueberwachung.
3. Erleichterung der Kreisarztermittlungen durch Verschärfung der Bestimmungen über
   a) Probenabgabe,
   b) Auskunftspflicht.
4. Förderung der hygienischen Volksbelehrung in den Schulen.

Mitglieder-Liste

der

Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie.

(Juni 1924).

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
1	Abel	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Jena	Hyg. Inst. d. Univ.
2	v. Angerer	Privatdozent	Erlangen	„ „ „ „
3	Bach	Professor	Bonn	„ „ „ „
4	Baerthlein	Reg.-Med.-Rat, Prof.	Würzburg	„ „ „ „
5	Bail	Professor	Prag	Hyg. Inst. d. dt. Univ.
6	Ballner	„	Bratislava (Preßburg)	Neustift 4
7	Barnewitz	Dr. med.	Bonn	Hyg. Inst. d. Univ.
8	Baumgarten	Med.-Rat u. Direktor	Trier	Med.-Unters.-Amt
9	Bechhold	Prof., Direktor	Frankfurt a./M.	Inst. f. Kolloidforschung
10	Beck, M.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Stade	Med.-Unters.-Amt
11	Beninde	Präsident u. Prof.	Dahlem	Landesanstalt f. Wasser usw. Hygiene
12	Bernhardt	Dr. med.	Berlin W.	Lützowplatz 11
13	Besserer	Med.-Rat, Prof.	Münster i. W.	Med.-Unters.-Amt
14	Bieber	Dr. med.	Marburg a./L.	Institut E. v. Behring
15	Biedl	Professor	Prag	Institut für exper. Pathol. der dt. Univ., Krankenhausgasse
16	Bieling, R.	Privatdozent	Frankfurt a. M.	Weidmannstr. 43
17	Bierbaum	Professor	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochsch., Hyg. Inst.
18	Binder	Direktor	Pforzheim	Bakt. Unters.-Amt
19	Bischoff	Professor	Bremen	Gesundheitsamt
20	Bitter	Professor	Kiel	Hyg. Inst. d. Univ.
21	Blumenthal, G.	Dr. med.	Berlin N. 39	Institut „Robert Koch“
22	Boecker	Dr. med.	Berlin N. 39	„ „ „
23	Boehncke	Professor	Berlin W. 30	Heilbronnerstraße 24
24	Börnstein	Med.-Rat u. Direktor	Gumbinnen	Med.-Unters.-Amt
25	Bongert	Professor	Berlin W. 50	Pragerstraße 11
26	Bonhoff, H.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Marburg/Lahn	Hyg. Inst. d. Univ.
27	Braun	Professor	Frankfurt a. M.	„ „ „ „
28	Breßlau, E.	„	Frankfurt a. M.	Georg Speyer-Haus
29	Březina	„	Wien	Volksgesundheitsamt
30	Bruns, H.	„	Gelsenkirchen	Hyg. Institut
31	Bürger	Abt.-Leiter u. Prof.	Dahlem	Landesanstalt f. Wasser usw. Hygiene
32	Bürgers	Professor	Düsseldorf	Hyg. Inst. d. Med. Akademie
33	Burri	„	Liebefeld/Bern	—
34	Conradi, H.	„	Zwickau	Carolastr. 17
35	Czaplewski	„	Köln a. R.	Vorgebirgstr. 19
36	Dahmen	„	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochsch., Hyg. Inst.
37	Dietrich	„	Köln-Lindenthal	Pathol. Institut d. Univ.
38	Dietrich, W.	Oberstabsarzt	Berl.-Lichterfelde	Friedrichstr. 3a
39	Doerr	Professor	Basel	Hyg. Inst. d. Univ.

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
40	Dold	Professor	Marburg a./L.	Institut „E. v. Behring“
41	Dresel	„	Heidelberg	Hyg. Inst. d. Univ.
42	v. Drigalski	Prof., Stadtarzt	Halle a. Saale	—
43	v. Dungern, Freih.	Professor	Ludwigshafen a. Bodensee	—
44	Eichholz, Wilhelm	Dr. med.	Darmstadt	Kekuléstr. 6
45	Eisler	Professor	Wien	Serotherap. Institut
46	Elkeles	Dr. med.	Charlottenburg	Neuer Fürstenbrunn. Weg 13/15
47	Erdmann, Rhoda	Professor	Wilmersdorf	Nassauische Str. 17
48	Ficker	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin	Kaiser Wilh.-Inst. f. experim. Therapie
49	Fischer	Polizeiarzt	Berlin W. 15	Pfalzburgerstraße 7
50	Fornet	Oberstabsarzt a. D.	Saarbrücken	Feldmannstr. 59.
51	Friedberger	Professor	Greifswald	Hyg. Inst. d. Univ.
52	Friedemann, U.	„	Berlin	Rud. Virchow-Krkh.
53	Fromme	Prof., Stadtarzt	Witten a. R.	—
54	Frosch	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin NW. 6	Tierärztl. Hochsch., Hyg. Inst.
55	Fülleborn	Professor	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
56	Funccius	Prosektor	Elberfeld	Menzelstr. 5
57	Gärtner, A.	Geheimer Rat, Prof.	Jena	Magdelstieg 2
58	Gegenbauer	Physikatsrat	Wien XVIII	Karl Beckgasse 39
59	Gehrke	Direktor	Stettin	Städt. Gesundheitsamt
60	Geiger	Dr., Leiter	Eystrup	Inst. z. Bek. d. Virusschweinep.
61	Gerlach, Franz	Direktor	Mödling b. Wien	Staatl. Tierimpfstoffgewinnungs-Anstalt
62	Gersbach	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Hyg. Inst. d. Univ.
63	Ghon	Professor	Prag	Pathol.-anat. Inst.
64	Giese	Reg.-Rat, Dr. med. vet.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
65	Gildemeister, E.	Ober-Reg.-Rat, Prof.	„	„
66	Gins, H. A.	Abt.-Leiter u. Prof.	Berlin N. 39	Institut „Rob. Koch“
67	Glage	Obertierarzt, Prof.	Hamburg	Kampstr. 31.
68	Gotschlich, E.	Professor	Gießen	Hyg. Inst. d. Univ.
69	Graetz	Abt.-Vorsteher, Prof.	Hamburg	Moltkestr. 1
70	Grassberger.	Professor	Wien IX	Hyg. Inst. d. Univ.
71	v. Gruber	Geheimer Rat, Prof.	München	„ „ „ „
72	Grütz	Privatdozent	Kiel	Dermat. Klinik
73	Günther	Geh. Med.-Rat, Prof.	Lichterfelde	Hindenburgdamm 122
74	Haendel	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
75	Hage	Generaloberarzt a. D.	Jena	Kriegerstr. 9
76	Hahn	Geh. Hofrat, Prof.	Berlin	Hyg. Inst. d. Univ.
77	Hailer	Reg.-Rat	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
78	Hartmann, M.	Professor	„	Kaiser Wilh.-Inst. f. Biologie
79	Hartoch	Dr. med.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
80	Hartung	Dr. med. et phil.	Dresden A	Liebigstr. 8 I.
81	Heck	Med.-Rat u. Direktor	Coblenz	Med.-Unters.-Amt
82	Heim, L.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Erlangen	Hyg. Inst d. Univ.
83	Heller	Professor	Dresden-A.	An der Mauer 2
84	Helly	„	St. Gallen (Schweiz)	Museumstr. 45
85	Hetsch	„	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
86	Heymann, Bruno	„	Berlin	Hyg. Inst d. Univ.
87	Hilgermann	„	Saarbrücken	Talstr. 76
88	Hilgers	Privatdozent	Königsberg i./Pr.	Hyg. Inst. d. Univ.
89	Hobstetter	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Jena	Veterinäranst. d. Universität
90	Hoffmann, Wilh.	Professor	Berlin	Städt. Haupt-Gesundheitsamt
91	Hoffmann, Erich	„	Bonn	Meckenheimer Allee 18
92	Hübener	„	Luckenwalde	Karlstraße 40
93	Huebschmann	„	Düsseldorf	Moorenstr. 5
94	Huntemüller	„	Gießen	Friedrichstr. 12
95	Hüppe	Hofrat, Prof.	Dresd.-Loschwitz	Pillnitzerstr. 15
96	Jaeger	Professor, Generalarzt a. D.	Coblenz	Triererstr. 115
97	Jacobitz	„	Beuthen i.O.-Schl.	Hygien. Institut

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
98	Jacobsthal	Privatdozent	Hamburg	Krankenhaus St. Georg
99	Joest	Obermedizinalrat, Prof.	Leipzig	Kärntnerstr. 4
100	Joetten, Karl W.	Professor	„	Windmühlenweg 23
101	Joseph, K.	Dr. med. vet.	Höchst a. M.	Farbwerke
102	Karsten	Direktor	Hannover	Tierseucheninst. d. Landwirtschaftskammer
103	Kathe	Med.-Rat, Prof.	Breslau XVI	Med.-Unters.-Amt
104	Kayser	Generaloberarzt	Münster i. W.	Kanalstr. 32
105	Keck	Stadtarzt	Augsburg	Bezirk 11
106	Kersten	Medizinalrat	Münster i./W.	Med.-Unters. Amt
107	Kirchner	Ministerialdirektor a. D., Prof.	Berlin	Landshuterstr. 35
108	Kirstein	Medizinalrat, Prof.	Hannover	Med.-Unters.-Amt
109	Kisskalt	Professor	Bonn	Hyg. Inst. d. Univ.
110	Kister	„	Hamburg	„ „ „ „
111	Klein	Med.-Rat, Direktor	Düsseldorf	Med.-Unters.-Amt.
112	Kleine, F. K.	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
113	Kleinsorgen	Leiter	Gotha	Bakt. Unters.-Anst.
114	Klimmer	Obermedizinalrat, Prof.	Leipzig	Denkmalsallee 110
115	Klose	Stadtarzt	Kiel	Rathaus
116	Knauer	Direktor	Königsberg/Pr.	Bakt. Inst. d. Landwirtschaftskammer, Beethovenstr.
117	Knorr	Privatdozent	Erlangen	Auf dem Berg 29
118	Knuth	Professor	Landsberg a. W.	Inst. f. Tierhygiene
119	Koch, Jos.	„	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
120	Kolle, W.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
121	Konrich	Ober-Reg.-Med.-Rat, Prof.	Charlottenburg	Kuno Fischerstr. 18
122	Korff-Petersen	Professor	Berlin	Hyg. Inst. d. Univ.
123	Kossel, H.	Geh. Hofrat, Prof.	Heidelberg	„ „ „ „
124	Kraus	Professor	Wien IX	Zimmermanngasse 3
125	Krause	Geh. Med.-Rat, Prof.	Bonn	Med. Poliklinik
126	Krumbein	Professor	Bern	Friedbühlstr. 22
127	Kruse	Geh. Med.-Rat, Prof.	Leipzig	Hyg. Inst. d. Univ.
128	Kudicke	Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Feldbergstr. 43
129	Kuhn, Ph.	Prof., Direktor	Dresden-A.	Zelleschestr. 28
130	Küster, E.	Prof.	Oberursel/Taunus	Pharmaz. Inst. v. L. W. Gans
131	Kutscher	Reg. u. Med.-Rat	Allenstein	Regierung
132	Landmann	Dr. med.	Darmstadt	Chem. Fabr. E. Merck
133	Landsteiner	Professor	New York	Rockefeller Institut
134	Lange, Bruno	Stabsarzt a. D.	Berlin	Institut „Robert Koch“
135	Lange, Ludwig	Ober-Reg.-Rat, Prof.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
136	Laubenheimer	Professor	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
137	Lehmann	Geh. Hofrat, Prof.	Würzburg	Hyg. Inst. d. Univ.
138	Lentz	Geh. Ob.-Med.-Rat, Prof., Min.-Rat	Berlin W. 66	Leipzigerstr. 3
139	Levinthal	Dr. med.	Berlin N. 39	Institut „Robert Koch“
140	Lichtenheld	Geh. Veterinärrat	Weimar	Carl Alexanderstr. 11
141	v. Lingelsheim	Geh. Med.-Rat, Prof.	Beuthen (O.-Schl.)	Hygien. Institut
142	Lockemann	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Institut „Robert Koch“
143	Loewenthal	Privatdozent	Bern	Hyg. Inst. d. Univ
144	Löns	Direktor	Dortmund	Hygien.-bakter. Institut
145	Lorenz	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Darmstadt	Landwehrstr. 8
146	Löwenstein	Professor	Wien IX/21	Serotherap. Institut
147	Lutz	Abt.-Vorstand	Stuttgart	Katharinenhospital
148	Lührs	Generaloberveterinär, Prof.	Dahlem	Fabeckstr. 43
149	Lütje	Veterinärrat	Stade	Fohlenunters.-Stelle
150	Machens	Direktor	Braunschweig	Bakt. Anstalt der Landwirtschaftskammer
151	Mandelbaum	Dr. med.	München	Elisabeth-Str. 7
152	Manteufel	Ober-Reg.-Rat	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
153	Markl	Sektionschef	Prag	Min. f. Volksges.
154	Marmann	Reg.- u. Med.-Rat	Trier	Regierung

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
155	Martini, E.	Professor	Bogota	Columbien
156	Martini, E.	Prof., Dr. phil. et med.	Hamburg	Tropen-Institut
157	Mayer, Martin	Professor	Hamburg	Tropen-Institut
158	Mayer, Otto	Ober-Reg.-Med.-Rat	Nürnberg	Rathausplatz 5
159	Meier, Georg	Medizinalrat	Gardelegen	—
160	Meinicke, E.	Chefarzt	Ambrock (Hagen)	Heilstätte
161	Messerschmidt, Th.	Professor	Hannover	Baumstr. 3 A.
162	Meyer	Prof., Direktor d. med. Abteil.	Bremen	Hygien. Inst.
163	Meyer, Kurt	Abt.-Direktor	Berlin	Rud. Virchow-Krkh.
164	Mießner	Professor	Hannover	Tierärztl. Hochsch., Hyg. Inst.
165	Möllers, B.	Ober-Reg.-Rat. Prof.	Berlin	Reichs-Gesundheitsamt
166	Mohrmann	Reg.- u. Med.-Rat	Arnsberg	Regierung
167	Morgenroth	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
168	Much	Professor	Hamburg-Eppendorf	Krankenhaus
169	Müller, Reiner	„	Köln-Lindental	Hyg. Inst. d. Univ.
170	Musehold	Obergeneralarzt a. D.	Lichterfelde	Sternstr. 43
171	Neißer	Geh. Med.-Rat, Prof.	Frankfurt a. M.	Hyg. Inst. d. Univ.
172	Neufeld, F.	„ „ „ „	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
173	Nissle	Professor	Freiburg i. Br.	Hyg. Inst. d. Univ.
174	Nocht	Obermedizinalrat, Prof.	Hamburg	Tropenhygien. Inst.
175	Nöller, W.	Professor	Berlin	Tierärztl. Hochsch., path. Inst.
176	Noetel	Abt.-Vorsteher u. Prof.	Landsberg a. W.	Hygien. Inst.
177	Nusshag	Techn. Direktor	Perleberg	Impfstoffwerk
178	Oettinger	Stadtmedizinalrat, Prof.	Charlottenburg	—
179	Olsen	Privatdozent	Berlin NW. 7	Hyg. Inst. d. Univ.
180	v. Ostertag	Geh. Reg.- u. Minist.-Rat, Prof.	Stuttgart	Schwabstraße 126
181	Otto, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Rob. Koch“
182	Overbeck	Generaloberarzt a. D.	Schwerin i. Meckl.	Braugewürzstr. 6
183	Paschen	Prof., Oberimpfarzt	Hamburg	Alte Rabenstr. 14
184	Pesch	Privatdozent	Köln	Hyg. Inst d.. Univ.
185	Petruschky	Professor	Danzig-Langfuhr	Hyg. Inst. d. Techn. Hochsch.
186	Pfeiffer, R.	Geh. Med.-Rat, Prof.	Breslau	Hyg. Inst. d. Univ.
187	Pfeiffer, L.	Geh. Ober-Med.-Rat, Prof.	Schwerin i. Meckl.	Schelfstr. 29
188	Pfeiler	Prof., Dr. med. vet.	Jena	Forstweg Nr. 1
189	Pick, E. P.	Professor	Wien IX	Pharmakol. Inst.
190	Plaut, H. C.	„	Hamburg	Neue Rabenstr. 21
191	Plehn	„	Berlin W. 62	Burggrafenstr. 4
192	Poppe	Prof., Dr. med. et phil.	Rostock	Blücherplatz
193	Prausnitz, Carl	Professor	Greifswald	Hyg. Inst. d. Univ.
194	Prausnitz, Wilh.	„	Graz	„ „ „ „
195	Přibram, Ernst	„	Wien IX	Staatl. serotherapeutisch. Inst.
196	Pröscholdt	Direktor, Dr. med. vet.	Züllchow (Pom.)	Ges.-Amt d. Landwirtschafts-kammer
197	Pusch	Ober-Reg.- u. Med.-Rat	Oppeln	Sedanstr. 19
198	Raebiger	Direktor, Prof.	Halle a./S.	Ludwig Wuchererstraße 42
199	Raubitschek	Professor	Czernowitz (Rumänien)	Pathol. Institut
200	Rautenberg	Med.-Rat u. Leiter	Erfurt	Medizin.-Untersuchungsstelle
201	Rautmann	stellv. Direktor u. Vorsteher	Halle a. S.	Tuberkuloseabt. d. bakt. Inst. der Landwirtschaftskammer
202	Reichel	Professor	Wien IX	Hyg. Inst. d. Univ.
203	Reichenbach	Geh. Med.-Rat, Prof.	Göttingen	„ „ „ „
204	Reichenow	Privatdozent	Hamburg	Tropenhygien. Institut
205	Reinhardt	Stadtmedizinalrat	Leipzig	Astorstraße 17.
206	Reiter	Prof., Privatdozent	Dahlem	Kaiser Wilhelm-Institut f. exp. Therapie
207	Rimpau	Prof., Direktor	Solln/München	Bakt. Unters.-Anst.
208	da Rocha-Lima	Professor	Hamburg 4	Inst. f. Tropenkrankheiten
209	Rosenthal, W.	„	Göttingen	Hyg. Inst. d. Univ.
210	Roth	„	Zürich	Englischeviertelstraße 54

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
211	Rothermundt	Privatdozent	Dresden	Dt. Kaiser-Allee 5
212	Ruge, Reinh.	Mar.-Obergeneralarzt a. D., Professor	Klotzsche b. Dresd.	Bahnhofstr. 6
213	Ruppel	Professor	Berlin	Schillstr. 2
214	Ruppert	Prof., Dr. med. vet.	La Plata (Arg.)	Bakt. Institut der Univers.
215	Ruß	Professor	Wien IX	Sensengasse 2
216	Sachs, H.	„	Heidelberg	Krebsinstitut
217	Sachweh	Direktor	Münster i. Westf.	Bakt. Inst. d. Landwirtschafts-kammer
218	Scharr	„	Berlin NW. 40	Bakt. Inst. d. Landwirtschafts-kammer d. Prov. Brandenburg
219	Scheller	Professor	Breslau	Hyg. Inst. d. Univ.
220	Schermer	„	Göttingen	Veterinäranst. d. Universität
221	Schiemann, O.	Abt.-Leiter u. Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
222	Schiff	Abteilungsdirektor	Berlin W. 15	Städt. Krkh. am Friedrichshain
223	Schilling, Cl.	Prof., Abt.-Direktor	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
224	Schloßberger	wissenschaftl. Mitgl. u. Prof.	Frankfurt a. M.	Inst. f. experim. Therapie
225	Schmidt, Hans	Privatdozent	Hamburg	Mittelweg Nr. 45
226	Schmidt, Paul	Professor	Halle a. S.	Hyg. Inst. d. Univ.
227	Schmitt	„	München	Veterinärstr. 6
228	Schmorl	Geh. Med.-Rat, Prof.	Dresden	Städt. Krankenhaus Friedrichstadt
229	Schnabel, A.	Abt.-Leiter u. Prof.	Berlin N. 39	Inst. „Robert Koch“
230	Schnitzer, Rob.	Dr. med.	„ „ 39	„ „ „
231	Schnürer, Jos.	Professor	Wien III	Tierärztliche Hochschule
232	Schottmüller	„	Hamburg	Alsterufer 11
233	Schreiber	Direktor	Landsberg a./W.	Heinersdorferstr. 14
234	Schuberg	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
235	Schumann	Direktor, Dr. med. vet.	Breslau	Tierseuchenamt d. Landwirtschaftskammer
236	Schütz	Professor	Kiel	Hyg. Inst. d. Univ.
237	Schwarz, L.	„	Hamburg 36	„ „ „ „
238	Seiffert	Privatdozent	Freiburg i. Br.	„ „ „ „
239	Seitz	Professor	Leipzig	„ „ „ „
240	Seligmann E.	„	Berlin C. 2	Haupt-Gesundheitsamt der Stadt Berlin
241	Selter	„	Königsberg i. Pr.	Hyg. Inst. d. Univ.
242	Silberschmidt	„	Zürich	„ „ „ „
243	Sobernheim	„	Bern	Friedbühlstr. 22
244	Sommerfeld	„	Berlin W. 15	Kaiserallee 201
245	Stempell	„	Münster i. W.	Nordstr. 34
246	Stickdorn	Techn. Leiter	Landsberg a./W.	Bakt. u. Serum-Institut
247	Sticker	Professor	Münster i. W.	—
248	Süpfle, Karl	„	München	Hyg. Inst. d. Univ.
249	Süssmann	Leiter, Priv.-Doz.	Nürnberg	Bakt. Unters.-Anstalt
250	Tiede	Dr. med. vet., Leiter	Köln a. Rh.	Bakt. Inst. Schlachthof
251	Titze	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
252	Tjaden	Obermedizinalrat, Prof.	Bremen	Dobben 91
253	Trommsdorff	Dr. med.	München	Bavariaring 20
254	Uhlenhuth	Geh. Reg.-Rat, Prof.	Freiburg i. Br.	Hyg. Inst. d. Univ.
255	Wagner	Reg.- u. Med.-Rat, Direktor	Danzig	staatl. Hygien. Institu
256	Waldmann	Leiter u. Prof.	Insel Riems bei Greifswald	staatliche Forschungsanstalt
257	Walter	Kreismedizinalrat, Prof.	Köslin i./Pom.	—
258	Wankel	Med.-Rat u. Direktor	Stettin	Med. Unters.-Amt
259	v. Wasielewski	Professor	Rostock i. Meckl.	Hyg. Inst. d. Univ.
260	v. Wassermann	Geh. Med.-Rat, Prof.	Berlin W. 10	Rauchstr. 26
261	Weber	Präsident	Dresden	Landes-Gesundheitsamt
262	Weichardt	Professor	Erlangen	Hyg. Inst. d. Univ.
263	Weidanz	Obermedizinalrat	Bremen	Frühlingstr.
264	Weissenberg	Professor	Berlin NW. 6	Anatom.-biol. Inst. d. Univ.

Nr.	Name	Amtscharakter usw.	Wohnort	Nähere Adresse
265	Weleminsky	Privatdozent	Prag-Smichow	Hygien. Inst. d. dt. Univ.
266	Wernicke	Geh. Med.-Rat, Prof.	Landsberg a. W.	Hygien. Inst.
267	Winkler	Privatdozent	Rostock i. M.	Hyg. Inst. d. Univ.
268	Wolff	Professor	Tübingen	„ „ „ „
269	v. Wunschheim	Dr. med.	Wien XIII 1	Bernbrunngasse Nr. 29
270	Zeissler	Vorsteher	Altona	städt. Unters.-Amt
271	Zeller	Ober-Reg.-Rat, Dr.	Dahlem	Reichs-Gesundheitsamt
272	Zuelzer, Margarete	Reg.-Rat	„	„ „
273	Zwick	Professor	Gießen	Veterin.-med. Klinik der Universität

Inhalt.

Arndt, A., Demonstrationen zur Kenntnis der Kulturamöben, S. *257.

Biberstein, H., u. **Lubinski, H.**, Untersuchungen über Organ- und Artspezifität, S. *222.

Bieling, R., Untersuchungen über das Wesen des Tuberkulins, S. *56.

Bien, Z., Ueber das Alkohol-Fleckfieber-Diagnostikum, S. *196.

Braun, H., Allgemeines über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien, S. *183.

Brekenfeld u. **Kirchner**, Demonstrationen zur Anaerobentechnik, S. *258.

Bruns, Hayo, Typhusepidemien und Wasserleitungen, S. *201.

Bürgers, Zur Scharlachätiologie, S. *220.

Dahmen, Züchtung und Morphologie des Erregers der Lungenseuche und Maul- und Klauenseuche (Autoreferat), S. *125.

Dresel, E. G., Ueber Anthrakozidie und Bakterizidie, S. *303.

Erdmann, Rhoda, Die Eigenschaften in vitro gezüchteter Stromazellen des Flexner-Jobling-Karzinoms, S. *194.

Gotschlich, E., Die Variabilität der Mikroorganismen in allgemein-biologischer Hinsicht, S. *2.

Grütz, Ueber Variabilität pathogener Hautpilze, S. *268.

Gutstein, M., Ueber die färberische Darstellung des Bakterienektoplasmas. Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Gramschen Färbung, S. *233.

Haim, Fettstudien, S. *253.

Hilgers, Der Bacillus necrodentalis (Goadby) bei Zahnkaries, S. *249.

Jollos, V., Variabilität und Vererbung bei Protisten, S. *22.

Kraus, R., Ueber Infektionskrankheiten und Epizootien in Südamerika, S. *131.

Kruse, Rasse und Blutzusammensetzung, S. *170.

Kuhn, Ph., Weitere Einblicke in die Entwicklung der A-Formen (Pettenkoferiaformen). Mit 2 Tafeln, S. *280.

Küster, Interferometrische Untersuchungen nach P. Hirsch zum Nachweis der Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose, S. *294.

Lange, Bruno, Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Tröpfchen- und Staubinfektion bei der Tuberkulose, S. *66.

Manteufel, P., Demonstration eines neuen Seitz-Filters für Laboratoriumszwecke. Mit 1 Abbildung im Text, S. *259.

—, Bemerkungen zu dem Ergebnis der bisherigen Untersuchungen betr. Abänderung der amtlichen Anleitung für die Ausführung der Wassermann-Reaktion, S. *305.

Mießner, H., u. **Baars, G.**, Das d'Herellesche Phänomen an Rotlaufbakterien. (Mit 2 Abbildungen im Text.) S. *131.

Mittermaier, R., Phagozytose und Zellimmunität, S. *240.

Morgenroth, J., Die Bedeutung der Variabilität der Mikroorganismen für die Therapie, S. *94.

Neufeld, F., Die Veränderlichkeit der Mikroorganismen in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie, S. *81.

Nißle, Zur Bakteriologie der gesunden und kranken Mundhöhle, S. *245.

Oehler, Rud., Symbiose und kommende Zelltheorie, S. *216.

Otto, R., Zur Kenntnis des anaphylaktischen Reaktionskörpers. (Nach Versuchen mit Prof. Shirakawa-Taihoku.) S. *220.

Pesch, K., Ueber experimentell erzeugte Wunddiphtherie. (Gleichzeitig ein Beitrag zur Variabilitätsfrage der Corynebakterien.) S. *261.

Poppe, Die Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung, S. *311.

Prausnitz, Carl, u. **Firle, Edith**, Neuer Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen. (Mit 1 Abbildung im Text.) S. *148.

Přibram, Die Bedeutung der Uebergangsformen für die Systematik der Mikroorganismen, S. *274.

Rosenthal, Werner, Demonstration eines neuen Mikroorganismus aus der Mundhöhle, S. *247.

Sachs, H., u. **Klopstock, A.**, Zur Serodiagnostik mittels Ausflockung, S. *167.

Sartorius, Neuartige Lysine bei Mycoidesbakterien. (Mit 4 Kurven im Text.) S. *162.

Schiff, F., u. **Adelsberger, L.**, Ueber blutgruppenspezifische Antikörper und Antigene. Mit 2 Abbildungen im Text, S. *172.

Schilling, Claus, Eine spezifische Reaktion bei der Tuberkulose des Meerschweinchens, S. *72.

Schloßberger, H., Hartoch, O., Lusena, M., u. **Prigge, R.,** Ueber die Brauchbarkeit der Komplementbindung mit verschiedenen Antigenen für die Diagnostik der Tuberkulose, S. *59.

Schnitzer, R., u. **Berger, E.,** Ueber die Wirkungsweise des Optochins gegenüber Pneumokokken, S. *292.

Schumacher, J., Zur Gramschen Färbung. (Mit Demonstrationen.) S. *266.

Seitz, A., Endokrine Drüsen und Abwehr. I. Mitteilung, S. *227.

Seligmann, E., Neues aus der Enteritisgruppe, S. *288.

Sobernheim, Spirochätenbefunde bei den sogen. Malayenfibromen (Demonstration), S. *260.

Titze, Experimentelles über die Maul- und Klauenseuche mit besonderer Berücksichtigung der Züchtung des Virus (Autoreferat), S. *124.

Walter, Die Resultate der Untersuchungen Ferráns über Tuberkulose, S. *49.

v. Wasielewski, Gesetzliche Handhaben der Typhus-Bekämpfung. (Mit 4 Abbildungen im Text.) S. *317.

Worms, Experimentelle Untersuchungen mit Stovarsol, S. *188.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 5366

Inhalt.

Bitter, Die Aetiologie und Epidemiologie des Paratyphus B und der sogenannten Fleischvergiftungen, S. *68.

Bresslau, E., Experimentelles über Hüllenbildung bei Ciliaten, S. *42.

Czaplewski, Zur Bakteriologie der Ruhr, S. *105.

Doerr, Das Fleckfiebervirus und seine immunisatorischen Eigenschaften, S. *2.

Friedberger u. **Putter,** Ueber die Wirkung von feindispersen, anorganischen und organischen, in Wasser unlöslichen Substanzen auf Blutkörperchen, Komplement und Ambozeptor, S. *168.

—, **Schröder** u. **Seiffert,** Versuche über das Verhalten des Bazillus X 19 im Reagenzglas und Tierkörper, S. *168.

Haendel, L., Gildemeister, E. u. **Schmitt, Hans,** Ueber Auswertung von Vakzine und Vakzineimmunseris, S. *126.

Hetsch u. **Schloßberger,** Biologische Eigenschaften der bei der Wunddiphtherie gefundenen Diphtheriebazillen, S. *65.

Huebschmann, Demonstration zur Färbung der Ruhramöben, S. *122.

Joetten, Neuere Forschungen über Gonokokken, S. *124.

Koch, Jos., Zum Mechanismus der peritonealen Infektion, Transsudation und Resorption unter besonderer Berücksichtigung der Tätigkeit des großen Netzes (Omentum maius), S. *99.

Kuczynski u. **Wolff,** Pathogenetische Streptokokkenstudien, S. *123.

Küster, Emil, Lange, Ludwig u. **Potthoff, Paul,** Ueber Säureagglutination, S. *132.

Lange, Ludwig, Ueber Tuberkuloseimmunisierungsversuche, S. *26.

— u. **Kersten, H. E.,** Ueber einige Beobachtungen bei chronischer Meerschweinchentuberkulose, S. *32.

Lührs, Rotz, S. *76.

Mießner, Die Bedeutung der Präzipitations- und Komplementbindungsmethode zur Diagnostik der Lungenseuche, S. *122.

Much, Fettantikörper, S. *63.

Petruschky, Bekämpfung der Tuberkulose im Kindesalter, S. *35.

Pfeiffer, R., Influenza. S. *43.

Plasaj, St. u. **Přibram, E.,** Ueber die Eigenbewegung und Begeißelung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie, S. *113.

—, — Ueber die Eigenbewegung und Begeißelung des B. pseudotuberculosis rodentium (Preisz) L. et N., S. *116.

Prausnitz, C., u. **Küstner, H.,** Untersuchung über die künstliche Uebertragung der Ueberempfindlichkeit gegen Fischeiweiß und andere artfremde Eiweißkörper, S. *122.

Přibram, E. u. **Plasaj, St.,** Zur Systematik der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie, S. *117.

Rosenthal, W., Phagozytose durch Endothelzellen, S. *124.

Schloßberger u. **Pfannenstiel,** Ueber die Differenzierung säurefester Bakterien (mit Demonstrationen), S. *25.

Titze, C., Beitrag zur Bedeutung der Fleisch- und Milchnahrung als Ursache tuberkulöser Infektionen, S. *23.

Uhlenhuth u. **Messerschmidt,** Zur experimentellen Chemotherapie der Typhusbazillenträger und Gallenblaseninfektionen, S. *125.

Uhlenhuth u. **Zuelzer,** Zur Epidemiologie der Weilschen Krankheit — zugleich ein Beitrag zur Frage der freilebenden Spirochäten (Icterogenesähnliche und andere), S. *141.

Weinert, Zur Pathologie und Klinik der Wunddiphtherie (mit Demonstrationen), S. *65.

Wagner, Zur biologischen Bewertung der Typhoideen, S. *71.

Zuelzer, Margarete, Biologische und systematische Spirochätenuntersuchungen, S. *154.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 93. Heft 5.

Ausgegeben am 15. November 1924.

Nachdruck verboten.

Zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen.

[Aus dem Staatlichen Serotherapeutischen Institute in Wien.]

Von Dr. **Norio Ogata** (Tokio).

Nach der Hypothese d'Herelles ist der Bakteriophage ein kleinstes, ultravisibles Lebewesen, das als Antagonist der Bakterien diese zum Absterben und zur Auflösung bringt. Es würde zu weit führen, alle Argumente zu wiederholen, die d'Herelle und seine Anhänger als Stütze dieser Theorie und für die tatsächliche Existenz eines solchen kleinsten Lebewesens anführen. Vielmehr können wir die Tatsache registrieren, daß die Mehrzahl der Autoren die Hypothese eines kleinsten Lebewesens ablehnt und die Ursache der ganzen Erscheinung, das Entstehen des bakteriophagen Lysins, vielmehr in den Bakterien selbst sieht, wahrscheinlich zusammenhängend mit dem Absterben und der sich daran schließenden Zersetzung der Bakterienzelle.

In dieser Richtung war es von ganz wesentlicher Bedeutung, daß Otto und Munter den Nachweis erbringen konnten, daß die Gewinnung des Lysins hauptsächlich von der zu seinem Nachweise benutzten Bakterienkultur abhängt, und daß es gelingt, aus solchen Bakterien allein das Lysin zu gewinnen; oder wie sich Gildemeister ausdrückte, es im Reagenzglase zu erzeugen. Otto und Munter gingen bei ihren Versuchen von Bakterienkulturen aus, deren Filtrate an und für sich keine lytischen Eigenschaften zeigen, und legten dann mit diesen Stämmen Bouillonkulturen an. Nach längerem Wachstum wurden diese erhitzt und filtriert. Wenn man nun derartige Filtrate in Bouillonröhrchen übertrug und diese mit frischen Keimen bebrütet wurden, trat nach einigen Uebertragungen und einiger Zeit in den Filtraten solcher Kulturen typische bakteriophage Wirkung auf. Dieser Nachweis gelang mit Typhus-, Coli-, Flexner-, Y- und Shiga-Stämmen. Aber auch aus Kulturen allein gelang die Darstellung, doch nicht mit allen Bakterienarten; so waren z. B. alle diesbezüglichen Versuche mit Pest- und Cholerabazillen sowie mit Pneumokokken negativ ausgefallen. Als ein die Lysinbildung begünstigender Faktor erwies sich die Filtration, doch ist dieselbe, wenn auch ein begünstigender, so doch kein wesentlicher Faktor, denn die Lysingewinnung aus den Kulturen gelingt auch ohne Filtration durch bloßes Erhitzen der Kultur und nachfolgendes Zentrifugieren. Im Zentrifugenklar war das Lysin einwandfrei nachzuweisen. Außer Filtration und Erwärmen haben sich als begünstigende Faktoren der Lysinentstehung in Kulturen auch noch die Beimengung von bakterienschädigenden Substanzen (antibakterielles Serum), Bakterienautolysate, chemische Stoffe usw.) erwiesen.

Daraus ergibt sich also die wichtige Tatsache, daß zur Entstehung des Bakteriophagen die Mitwirkung des Organismus gar nicht notwendig ist, und daß man von Fundorten des Bakteriophagen gar nicht sprechen sollte, vielmehr nur von Momenten, welche die Lysinbildung begünstigen. Solche sind vor allen Dingen Stuhl und Urinfiltrate, Preßsaft von Organen (Ruttner), Pankreas- und Darmschleimhautextrakte (Borchardt), Galle, aber auch destilliertes Wasser und viele andere.

Wichtig scheint für die Entstehung des Bakteriophagen aus der Bakterienkultur der Umstand zu sein, daß der verwendete Stamm ein lysinogener, das heißt der Einwirkung von Bakteriophagen zugänglicher Stamm ist.

Jaumain hat angegeenb, daß stark getrübte Bouillonkulturen, z. B. von Prodigiosus oder Staphylococcus, in luftdicht verschlossenen Versuchsröhrchen bei 37° gehalten, sich infolge von Selbstverdauung innerhalb weniger Tage klären. Dieselbe Autolyse konnte er unter gleichen Bedingungen auch auf festen Nährböden beobachten. Dieser Versuch gelingt aber nicht bei Verwendung von Aufschwemmung

in physiologischer Kochsalzlösung. Dieser Vorgang der Autolyse bleibt aber auf die Kultur, in der er vor sich geht, beschränkt und läßt sich nicht durch Passage serienweise fortführen wie der d'Herelleschhe Bakteriophage.

Gegen die Versuche, in denen es gelang, die Entstehung des Bakteriophagen aus den Kulturen allein nachzuweisen, hat d'Herelle eingewendet, daß alle derartigen Stämme einmal aus dem erkrankten Organismus gezüchtet worden seien, daß man also Mischkulturen von Bakterien und Bakteriophagen vor sich habe. Diesen Einwurf hat Pico widerlegt, indem er sporenhaltige Milzbrandkulturen auf 95° erhitzte, wodurch ein beigemischter Bakteriophage sicher abgetötet worden wäre. Dennoch gelang es ihm, aus solchen Kulturen ein wirksames bakteriophages Lysin darzustellen, wodurch die Annahme Ottos und Munters, daß das wirksame Agens der Lyse lediglich ein Produkt der Bakterien selbst sei, eine überzeugende Stütze erhielt.

Aber eine wichtige Frage bleibt immer noch offen, wie und unter welchen Umständen kommt es in einer Bakterienkultur zur Entstehung des Bakteriophagen und welcher Natur ist dieses Lysin?

Wichtig sind die Forschungsergebnisse Doerrs, nach denen es nur dann zum Absterben der Bakterien und zur Lyse kommt, wenn das lytische Prinzip einen ganz bestimmten, für jede Kombination von Bakterien und Bakteriophagen charakteristischen Konzentrationswert erreicht hat.

Sicher scheint es zu sein, daß die lebende Bakterienzelle für die Entstehung des Bakteriophagen von wesentlicher Bedeutung ist, und daß das Lysin vor der Auflösung der Bakterienzelle von dieser selbst gebunden wird.

Nach v. Liebermann beruht das d'Herellesche Phänomen auf einem allgemein gültigen Naturgesetz, indem Stoffwechselprodukte bzw. die Anhäufungen der durch Zellzerfall bedingten Stoffe eine Vergiftung und Auflösung der diese Stoffe produzierenden Lebewesen hervorruft. Nach seiner Ansicht sind Bakteriophagen nichts anderes als solche enzymartige Stoffe, welche nicht nur in den Zellen des Organismus, sondern auch im Bakterienleibe vorhanden sind, und die durch ihre proteolytische, diastatische usw. Wirkung gewisse Zellteile im Innern des Bakteriums auflösen. Nach Otto und Munter wäre das bakteriophage Lysin am besten als ein kolloidales Gemisch vorzustellen, dessen disperse Phase aus allerkleinsten Bakterieneiweißteilchen besteht.

Ich habe nun, anschließend an die Veröffentlichungen Ottos und Munters, an einer Reihe von Bakterienstämmen versucht, das lytische Agens aus den Kulturen allein zu gewinnen.

Zu diesem Zwecke verwendete ich 10 verschiedene Shiga-Stämme, von denen 2, wie ich aus anderen Versuchen wußte, gegen Bakteriophagenwirkung resistent waren. Ueberdies habe ich einige Flexner- und Y-Stämme, sowie Dysenterie-Schmitz in die Versuchsreihe einbezogen.

Die einzelnen Stämme wurden am 9. März 1923 in Bouillonröhrchen zu je 5 ccm Bouillon eingeimpft, die, mit Watte verschlossen, in den Brutschrank gestellt wurden. Alle 14 Tage bis 3 Wochen wurden einige Oesen aus den langsam verdunstenden Kulturen einerseits auf Schrägagarröhrchen und Bouillon übertragen, andererseits nach Uebertragung diese Bouillon erwärmt, und dann die Bouillonröhrchen frisch mit Shiga-Stämmen beimpft. Es erga sich zunächst, daß in den eintrocknenden Kulturen sich die Shiga-Bazillen durch wenigstens 2 Monate noch lebend erhielten, und während dieser Versuchsdauer konnte ich auch keine bakteriophage Wirkung in diesen Kulturen nachweisen.

Erst als die Verdunstung in den Kulturröhrchen am 16. Juni soweit vorgeschritten war, daß nur mehr eine kleine syrupartige Flüssigkeitsmenge in der Kuppe der Eprouvette erhalten war, wozu ein 98tägiger Aufenthalt im Brutschrank erforderlich war, ergab eine neuerliche Untersuchung folgende Resultate:

Prüfung auf Sterilität von Bouillonröhrchen Nr.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
auf Schrägagar	ster.	ster.	ster.	ster.	Wachst.	ster.	ster.	ster.	ster.	Wachst.
in Bouillon	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

Es waren also in diesem Zeitpunkte sämtliche Kulturröhrchen durch die Verdunstung und Eindickung steril geworden, mit Ausnahme der beiden Stämme Nr. 5 und 10, die, wie erwähnt, von Hause aus „bakteriophagenfest" waren und auch jetzt noch lebende Keime enthielten.

Ich prüfte nun neuerdings diese sterilen, syrupösen Bouillonkulturreste auf das Vorhandensein von Bakteriophagen.

Zu diesem Zwecke wurden 2 Serien Bouillonröhrchen mit Shiga-Stämmen beschickt, die für die Einwirkung des Bakteriophagen nach früheren Versuchen sich als empfänglich erwiesen hatten, und nun wurde, als eben das erste Wachstum sich in den Röhrchen durch Trübung zu erkennen gab, in die eine Serie der jungen Shiga-Bouillonkulturen 2 Oesen aus den einzelnen eingedickten Kulturen übertragen. Das Ergebnis dieser Versuchsreihe war folgendes: Während in allen Kontrollröhrchen das Wachstum der Kulturen unter Zunahme der Trübung in regelmäßiger Weise vor sich ging, wurden die mit den syrupdicken Bodensätzen nachgeimpften Röhrchen völlig aufgehellt, ausgenommen jene aus den alten Kulturen Nr. 5, 6 und 10.

Als dann nach weiterem 24stünd. Aufenthalte im Brutschranke aus den einzelnen Bouillonröhrchen je 2 Oesen auf Schrägagar übertragen wurden, erhielt ich folgendes Resultat: Von den Röhrchen Nr. 5, 6 und 10, die trüb geblieben waren, wuchsen aus 5 und 10 ein kontinuierlicher Rasen auf dem Schrägagar, aus dem Röhrchen 6 ein Rasen mit deutlichen Bakteriophagenlöchern. Von allen übrigen klar gebliebenen Röhrchen blieben die Agarabstriche steril, nur aus Röhrchen Nr. 3 gingen einige wenige Flatterformen auf.

Daraus geht hervor, daß der syrupartige Rückstand der eingetrockneten Bouillonkulturen von 10 verschiedenen Shiga-Stämmen in 8 Fällen bakteriophages Lysin enthalten hatte, in 2 nicht. In 2 von den 8 Fällen hatte die weitere Prüfung die Ausbildung von sekundären Kulturen ergeben, die aber die Einwirkung resp. das Vorhandensein eines Bakteriophagen deutlich erkennen ließen.

In beiden Fällen, in denen es während der Eintrocknung der Bouillonkulturen nicht zur Ausbildung von Bakteriophagen gekommen war, handelte es sich um Shiga-Stämme, die von Haus aus gegen die Einwirkung des Bakteriophagen resistent waren.

Dieser letzte Versuch mit den eingetrockneten Kulturen wurde noch einmal wiederholt und ergab das gleiche Resultat. Nun wurden die einzelnen eingedickten Bouillonkulturen für sich in Serien gegen verschiedene Stämme geprüft, und stets ließ sich der Bakteriophage nachweisen, mit Ausnahme der Rückstände der Bouillonkultur der beiden resistenten Stämme Nr. 5 und 10, die niemals, so oft sie auch geprüft wurden, eine lytische Wirkung erkennen ließen. Diese Kreuzversuche ergaben übrigens auch eine Bestätigung für die Uniformität der so entstandenen Bakteriophagen, insofern jeder gegen alle für Lysin empfindlichen Stämme wirksam war.

Ich habe dann eine doppelte Serie von Bouillonröhrchen mit je 1 der Originalstämme, die den Ausgang für die Kulturen, welche durch Verdunsten eingedickt worden waren, gebildet hatten, beimpft. Je 1 der Röhrchen blieb Kontrolle, das andere wurde mit 2 Oesen aus der korrespondierenden, eingedickten Kultur beimpft und alle Röhrchen auf einige Stunden in den Brutschrank gestellt. Dann wurden alle Röhrchen auf 60° erwärmt und die Bazillen abgetötet. Nach scharfem Zentrifugieren wurden einige Tropfen aus dem Zentrifugenklar frisch

beimpften Shiga-Bouillonkulturen zugesetzt. Das Ergebnis war, daß in den Originalstammkulturen kein lytisches Agens nachzuweisen war, wohl aber in allen der vorher mit 2 Oesen eingedickter Kultur beimpften Röhrchen, ausgenommen wieder die resistenten Stämme 5 und 10.

Dadurch war die Thermoresistenz und die Vermehrung resp. Uebertragbarkeit der in alten Kulturen entstandenen Bakteriophagen erwiesen.

Ueber die Wirksamkeit resp. den Bakteriophagengehalt dieser durch Verdunsten eingedickten Kulturen habe ich nur orientierende Versuche angestellt, insofern ich in mehrere Bouillonröhrchen zu je 5 ccm 3 Oesen aus dem eingedickten Kulturreste in das 1. Röhrchen und von diesem wieder 3 Oesen und so weiter in das nächste impfte. Wenn dann aus diesen Röhrchen frischen Kulturen gleiche Mengen zugesetzt wurden, zeigte sich innerhalb meiner Versuchsreihe nur im jeweils 1 Röhrchen noch die bakteriophage Wirkung, nicht aber in den höheren Verdünnungen, die ja auch in der besprochenen Art sehr hohe waren.

Läßt man die Kulturen noch länger im Brutschranke stehen, bis auch der syrupdicke, die Kuppe füllende Bouillonrest völlig eingetrocknet ist und löst dann die trockene Schicht in 1 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung unter Erwärmen bei 45° auf, so läßt sich darin ebenfalls noch das lytische Agens durch analoge Versuchsreihen nachweisen. Als interessant erwähne ich, daß sich selbst nach dem Eintrocknen in den lysinresistenten Stamme Nr. 5 bei Uebergießen mit Bouillon lebende Keime nachweisen lassen. d'Herelle hat also wohl recht, wenn er den von Anfang an resistenten Stämmen eine viel höhere allgemeine Resistenz und Vitalität zuerkennt als anderen.

Ich habe nun denselben Versuch in seinem ganzen Umfange wiederholt und bezüglich der Shiga-Kulturen im wesentlichen dieselben Resultate erzielt. In diesem Versuch habe ich aber auch fünf Flexner-, 5 Y-Stämme und 4 Schmitz-Stämme und 1 von Busson aus einer infizierten Pflegeschwester gezüchteten resistenten Shiga-Stamm einbezogen. Dabei ergab sich, daß durch Eindickung sich unter den 5 Flexner-Stämmen nur 1mal, unter den 5 Y-Stämmen 2mal und unter den 4 Schmitz-Stämmen und dem sog. Schwesternstamm kein einziges Mal ein bakteriophages Lysin in dem eingedickten Bouillonkulturrest nachweisen ließ.

Es scheint, wie dies ja schon aus zahlreichen anderen Arbeiten hervorgeht, daß eben die Shiga-Stämme eine ganz besondere Beziehung zum Bakteriophagen haben, nicht nur was ihre Beeinflussung, sondern auch was seine Entstehung aus den Kulturen selbst betrifft. Erwähnen möchte ich, daß ich in einer anderen, gemeinsam mit Busson publizierten Arbeit die Vermutung ausgesprochen habe, daß die von Schmitz beschriebenen Shiga-Stämme wahrscheinlich nur bakteriophagenwiderstandsfähige Shiga-Stämme sein dürften. Diese Vermutung wird durch das Ergebnis, daß die Schmitz-Stämme analog den resistenten Shiga-Stämmen in ihren alten Kulturen kein bakteriophages Lysin bilden, noch bestärkt. Die von mir untersuchten Schmitz-Stämme waren auch alle bakteriophagenresistent.

Ich habe dann mit den aus den Flexner- und Y-Kulturen erhaltenen 3 Bakteriophagen Kreuzversuche auch gegen Shiga-Bazillen vorgenommen und dabei auch gegen diese die bakteriophage Wirkung festgestellt, also auch dadurch die Einheitlichkeit der aus alten Kulturen gewonnenen Bakteriophagen mit den d'Herelleschen festgestellt.

Nun habe ich mit diesem Versuche gleichzeitig eine Serie von mit denselben Stämmen beimpften Bouillonröhrchen luftdicht versiegelt und für die gleiche Versuchsdauer in den Brutschrank gestellt. Zur Zeit, als bei den anderen Röhrchen die Verdunstung bis zur Syrupdicke in der Kuppe der Eprouvette vorgeschritten war, wurde der luftdichte Verschluß gelöst und die Kulturen durch Erwärmen auf 60° abgetötet. Nach entsprechendem Zentrifugieren wurde das Zentrifugenklar auf das Vorhandensein von Bakteriophagen geprüft. Kein einziges der vor dem Verdunsten geschützten Kulturröhrchen hatte einen Bakteriophagen ausgebildet.

Ich habe weiterhin dieselben Stämme auf Schrägagar überimpft und bei Zimmertemperatur durch 5 Monate aufbewahrt. Nach dieser Zeit wurden die Kulturen mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt, gut durchgeschüttelt und nach einigen Stunden auf 60° erwärmt. In keinem einzigen Röhrchen war ein bakteriophages Lysin nachzuweisen.

Mehrere gut gewachsene Bouillonröhrchen derselben Shiga-Stämme, welche im Verdunstungsversuche Bakteriophagen ausgebildet hatten, wurden in je eine Petri-Schale gegossen und diese in evakuierte Exsikatoren über Schwefelsäure gehalten, bis der Inhalt dickflüssig geworden war, was in 2—3 Tagen eintrat. Wurden nun diese eingedickten Rückstände in entsprechender Weise erwärmt und geprüft, so ergab sich ebenfalls, daß es bei dieser rasch durchgeführten Verdunstung nicht zur Ausbildung von Bakteriophagen in den Kulturen gekommen war.

Es scheinen also bei der Entstehung der Bakteriophagen in alten Kulturen, wie diese zuerst von Gildemeister und unabhängig davon von Otto und Munter beschrieben wurde, nicht nur die Zeit, sondern vielleicht auch Oxydationsvorgänge durch ständigen Luftzutritt eine wesentliche Rolle zu spielen.

Zusammenfassung.

Aus den vorliegenden Versuchen ergibt sich zunächst eine vollinhaltliche Bestätigung der von Gildemeister, Otto und Munter aufgedeckten Tatsache, daß das bakteriophage Agens in alten Bakterienkulturen aus diesen selbst entstehen kann. Weiterhin, daß dieser so gewonnene Bakteriophage alle charakteristischen Merkmale des d'Herelleschen Bakteriophagen besitzt. Er läßt sich von Kultur zu Kultur übertragen, ist thermoresistent und in gewisser Beziehung, wie Kreuzversuche ergeben, uniform. Der Bakteriophage entsteht in alten Kulturen langsam, und es scheinen zu seiner Entstehung gewisse Faktoren, wie Luftzutritt, also Oxydationsvorgänge, von wesentlicher Bedeutung zu sein, denn in luftdicht abgeschlossenen Kulturen kommt es, wie schon Jaumain zeigte, wohl zu autolytischen Vorgängen, aber nicht zur Ausbildung eines übertragbaren lytischen Agens. Die Einengung oder Konzentration des Nährbodens allein spielt ebenfalls nicht die wesentliche Rolle bei Entstehung des Bakteriophagen, denn beschleunigte oder forzierte Versuche in dieser Richtung erwiesen das Gegenteil. Es scheint, als ob das langsame Absterben der Bakterien unter ganz bestimmten Verhältnissen, die möglicherweise vorher in

der Bakterienzelle weitgehende Stoffwechselstörungen hervorgerufen haben, zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen erforderlich sei. Daß das lytische Agens wahrscheinlich aus der Bakterienzelle selbst stammt und nicht etwa mit Abbauprodukten der Nährböden usw. zusammenhängt, das ergibt sich daraus, daß nur bestimmte Bakterienzellen, und zwar solche, die selbst für die Einwirkung des Bakteriophagen empfindlich sind, im Laufe des Absterbens und Eintrocknens der Kultur ein bakteriophages Lysin hervorbringen. Diese wahrscheinlich enzymartigen Substanzen finden sich nicht in den eingetrockneten oder alten Kulturen von sogenannten bakteriophagenfesten oder resistenten Stämmen.

Ebensowenig finden wir Bakteriophagen in alten Kulturen der Dysenteriestämme vom Typus „Schmitz", weil diese Stämme resistenten Shiga-Stämmen identisch oder wenigstens sehr nahe gestellt sind.

Am Schlusse danke ich Herrn Dozenten Dr. Busson aufrichtigst für die Anregung und Anleitung zu diesen Untersuchungen.

Nachdruck verboten.

Eine Selektionsmethode für den Choleravibrio.

[Aus dem Wissenschaftlichen Mikrobiologischen Institut in Moskau (Direktor: Prof. W. Barikin).]

Von **S. Minervin.**

Aus zahlreichen Literaturangaben ist bekannt, daß der Choleravibrio sowohl in seiner Morphologie als auch Biologie keine streng fixierten und unveränderlichen Eigenschaften besitzt, daß verschiedene Rassen dieses Mikroben gewisse Abweichungen von der Norm zeigen und daß sogar ein und dieselbe Rasse im Laufe der Zeit ihre typischen Eigenschaften ändern kann, wobei einige solcher Merkmale verloren gehen, denen wir auch noch jetzt geneigt sind, einen wichtigen diagnostischen Wert zuzuschreiben. Das wichtigste ist, daß die Hauptmethoden, die zur Differenzierung des Choleravibrio benutzt werden, die serologischen Reaktionen und besonders die Agglutination, nicht immer beim Choleravibrio streng konstant und unveränderlich verlaufen.

Nach den Beobachtungen vieler Autoren können diese Reaktionen nicht nur zeitweilig in verschiedenem Grade schwanken, und zwar vom völligen Verschwinden bis zum Wiederauftreten in normalen Grenzen. Einige epidemiologische Beobachtungen veranlassen uns ebenfalls zu der Annahme, daß der Choleravibrio seine Agglutinabilität wie auch andere serologische Eigenschaften einbüßen kann, und daß umgekehrt die Anwesenheit dieser Eigenschaften bei Vibrionen, die sich in der Umgebung befinden, nicht unbedingt eine Choleraepidemie zur Folge zu haben braucht. Es drängt sich daher der Gedanke von der Verwandtschaft der agglutinablen und inagglutinablen Vibrionen

auf, besonders wenn wir gleichzeitig mit einer Choleraepidemie ein Erscheinen und starke Verbreitung der choleraähnlichen Vibrionen beobachten, die schwerlich ohne Annahme ihrer Verwandtschaft mit echten Choleravibrionen zu erklären wäre. Diese Annahme wird noch wahrscheinlicher, wenn wir das Verhältnis der agglutinablen zu den inagglutinablen Vibrionen in verschiedenen Perioden der Choleraepidemien, die Fälle der Ausscheidung choleraähnlicher Vibrionen von Kranken, die ein echtes Bild der Cholera asiatica darstellen, und endlich die vorhandenen experimentellen Angaben der serologischen Verwandtschaft der choleraähnlichen Vibrionen mit den echten Vibrionen und der Beziehungen der ersteren zu den Rekonvaleszentenseren in Betracht ziehen.

Die Möglichkeit scharfer Schwankungen der Agglutinabilität der Choleravibrionen auf Grund der angeführten Tatsachen annehmend, haben wir im Auftrage von Prof. W. Barikin festzustellen versucht, ob man mittels der Selektionsmethode aus ein und derselben Kultur Cholerastämme von verschiedener Agglutinabilität erhalten kann.

Die Methode bestand in folgendem: Es wird eine Plattenkultur angelegt, und die auftretenden Kolonien werden auf ihre Agglutinabilität untersucht. Die Kolonien mit herabgesetzter Agglutinabilität werden einerseits auf Schrägagar zur genauen Feststellung des Agglutinationstiters abgeimpft, andererseits wieder auf Petri-Schalen gezüchtet. Die einzelnen Kolonien auf den letzteren werden in der gleichen Weise untersucht und fortgezüchtet usw. Die Vibrionen mit heragesetzter Agglutinabilität auf diese Weise fortzüchtend, suchten wir ausfindig zu machen, wie weit die individuelle Agglutinabilität der einzelnen Choleravibrionen auf diesem Wege heragesetzt werden kann.

Im Laufe der Arbeit zeigte sich die Schwierigkeit, solche Vibrionen, die von der Menge normal agglutinierbarer Vibrionen sich unterscheiden, zu isolieren und besonders ihre Eigenschaften zu fixieren. Darum wandten wir die folgende Methode an:

Choleravibrionen wurden in Röhrchen, die mit 0,85proz. NaCl-Lösung verdünntes, agglutinierendes Choleraserum enthielten, agglutiniert. 24 Std. nach Verlauf der Agglutination wurden die Röhrchen zentrifugiert, um die agglutinierten Vibrionen zu präzipitieren. Nach dem Zentrifugieren wurde vorsichtig an der Oberfläche ein Tropfen der Flüssigkeit entnommen, in der die gegen die Agglutination festen Vibrionen geblieben waren, und auf eine Agarplatte geimpft. Die am nächsten Tage erscheinenden Kolonien wurden in hängenden Tropfen auf Agglutinabilität geprüft und diejenigen unter ihnen, die eine besonders schwache Agglutinabilität besaßen, wie schon erwähnt, untersucht. Auf diese Weise wurden während einer langen Zeit 6 Cholerastämme untersucht, unter denen 3 aus dem Stuhle Cholerakranker und 3 aus Wasser isoliert wurden, wobei eine große Zahl der Kolonien auf Agglutinabilität im hängenden Tropfen geprüft war. Während dieser Versuche sowohl mittels der einfachen Selektion, als auch bei Kombination mit der Agglutination in schwachen Verdünnungen des agglutinierenden Serums wurde eine beträchtliche Zahl von Kolonien mit schwacher Agglutinabilität gefunden, und nicht selten wurden Kolonien angetroffen, die von keinen Verdünnungen des Serums agglutiniert wurden. (Der Titer der angewandten Seren schwankte von 1:8000 bis 1:12000.)

Beim Ueberimpfen dieser Kolonien auf Schrägagar erhielt man jedoch Kulturen, deren Titer demjenigen der Ausgangskultur gleich oder ein wenig niedriger war. In den letzten Fällen wurde der Ausgangstiter nach 1 oder 2 Ueberimpfungen erreicht. Regelmäßig stand die Beweglichkeit der Vibrionen im Zusammenhang mit ihrer Agglutinabilität, und zwar, je niedriger die letzte war, desto schwächer auch die Beweglichkeit. Die Vibrionen, die nicht agglutiniert wurden, besaßen keine aktive Beweglichkeit, erwarben sie aber, nachdem sie infolge der Ueberimpfungen auf Schrägagar ihre Agglutinabilität hergestellt hatten.

Der Gang der Experimente wurde dann ein wenig verändert, da einfache Beobachtungen zeigten, daß die Choleravibrionen in ihren Beziehungen zum agglutinierenden Serum individuelle Unterschiede aufwiesen, und zwar konnte bei Beobachtung des Verlaufs einer Agglutination im hängenden Tropfen wahrgenommen werden, daß, während ein Teil der Vibrionen der agglutinierenden Wirkung des Serums sofort verfällt, ein anderer dieser Wirkung offenbar widersteht, und viel später agglutiniert wird. Es sind endlich solche Individuen vorhanden, die noch nach längerer Zeit sich lebhaft zu bewegen fortfahren, ohne also der Wirkung des spezifischen Serums zu unterliegen.

Auf Grund des beschriebenen Verlaufes der Agglutination im hängenden Tropfen ein ungleiches Verhältnis der einzelnen Choleravibrionen zum agglutinierenden Choleraserum annehmend, konstruierten wir nach einer Idee von Prof. W. Barikin ein W-förmiges Glasgefäß, dessen beide Schenkel frei kommunizierten.

Der Apparat wurde mit Bouillon, agglutinierendes Choleraserum in Verdünnung von 1:100 enthaltend, gefüllt; einer der Schenkel wurde dann mit Choleravibrionen beimpft. Es wurde angenommen, daß die normal agglutinablen Vibrionen in Klumpen am Boden des beimpften Schenkels sich absetzen, die schwach oder inagglutinablen dagegen infolge ihrer Beweglichkeit in den 2. Schenkel übergehen und darin eine Generation hervorbringen würden.

Bei einer solchen Versuchsanordnung wurde in 1 Falle eine Abart des Choleravibrionen erhalten, die vom Ausgangsstamme ihren Merkmalen nach stark abwich. Der Ausgangsstamm für diesen Versuch wurde am 26. 2. 1922 in Tambow als Nr. 855 aus den Ausleerungen eines Kranken O., der im Verlaufe einer Recurrenserkrankung unerwartet an Cholera erkrankte, gezüchtet. Der Kranke war kurz vor der Erkrankung aus Baku eingetroffen. In Tambow selbst gab es damals keine Cholera. Die Agglutinabilität des Stammes war scharf ausgesprochen bis zur Titergrenze des angewandten Serums. Die Pfeiffersche Reaktion in vivo gab starke Bakteriolyse nach Verlauf von 20 Min. Die weiter unten zu beschreibende atypische Abart wurde nach 7tägigem Verweilen des W-förmigen Apparates im Brutschranke bei 37° erhalten. Tägliche Aussaaten auf Agarplatten aus den beimpften Schenkeln ergaben typische Vibrionen; der 2. Schenkel blieb während der 1. Woche steril. Nach Verlauf von 1 Woche blieben die aus den ersten Kolonien immer neu gezüchteten Kolonien ganz normal, während aus dem bisher sterilen 2. Schenkel atypische Vibrionenkolonien erhalten wurden. Ihre Abweichung von der Norm bestand darin, daß sie keine gleichmäßigen Emulsionen gaben. Beim Abspülen der Kolonien mit physiol. Kochsalzlösung oder destill. Wasser

wurden Klümpchen verschiedener Größe erhalten, die einen Bodensatz bildeten. Die Anhäufung der Vibrionen wie auch die einzelnen Exemplare waren bewegungslos. Auch das Aussehen der Kolonien auf den Agarplatten war atypisch. Während der ersten Tage ihrer Entwicklung unterschieden sich die Kolonien ihrem Aussehen nach nicht von den normalen, sie waren glatt, halb durchsichtig, von gewöhnlicher Größe, besaßen eine schwachbläuliche Nuance, sahen vielleicht auch etwas gräulicher im Vergleiche mit den typischen Kolonien der normalen Vibrionen aus. Nach Verlauf von 2, manchmal 3 Tagen änderte sich jedoch dieses fast normale Aussehen der Kolonien: um den zentralen, glatten Teil der Kolonie erschien ein gräulicher Ring.

Der äußerliche, durch diesen Ring abgegrenzte Teil der Kolonie war radiär gestreift. Beim Abimpfen auf Plattenagar von alten Bouillon- oder Schrägagarkulturen bekamen die Kolonien ein etwas abweichendes Aussehen. Die periphere Streifung war manchmal sehr undeutlich, und der Rand der Kolonien sah wellig aus. In einigen Fällen konnte die Streifung nur mit der Lupe beobachtet werden. Die Dichtigkeit der die Peripherie der Kolonien furchenden Linien war ebenfalls nicht gleichmäßig. Der Ring, der den peripheren, gefurchten Teil der Kolonien von dem glatten, zentralen abgrenzte, war ebenfalls nicht ganz rund: manchmal war auch er etwas wellig, uneben und verlief in verschiedenen Kolonien in ungleicher Entfernung vom Zentrum der Kolonie. Der Grad der Abweichungen von der Norm war bei diesen Kolonien ebenfalls ungleich.

Die beschriebenen Besonderheiten, die fast immer mit bloßem Auge beobachtet werden konnten, traten besonders scharf bei Beobachtung mittels der Lupe oder bei schwachen Mikroskopvergrößerungen hervor. Doch waren die Eigentümlichkeiten des Aussehens an den größeren und isoliert gelagerten Kolonien zu beobachten, aber nicht bei allen Kolonien gleich ausgesprochen; sie waren deutlicher an den größeren und isoliert gelagerten Kolonien zu beobachten. Bei den kleinen und zusammengedrängten Kolonien waren diese Merkmale viel schwächer ausgeprägt. Auf den Agarplatten waren die Kolonien gewöhnlich so verteilt, daß in der Mitte, wo sie klein und gedrängt waren, nur glatte und unveränderte Kolonien zu sehen waren; etwas näher zum Rande der Schale, entsprechend der größeren Entfernung der Kolonien voneinander und ihren größeren Dimensionen, kamen schon einzelne atypische Formen zum Vorschein, und endlich waren am Rande der Petri-Schalen fast sämtliche Kolonien atypisch. Nur diejenigen peripheren Kolonien, die zusammengedrängt waren, sahen klein und glatt aus. Das abnorme Aussehen der Kolonien hing auch vom Alter des Agars und von seiner Dicke ab: je frischer und dicker er war, desto schärfer waren die Eigentümlichkeiten der Kolonien ausgesprochen und umgekehrt. Im Laufe der Zeit wurden die atypischen Kolonien weniger durchscheinend und zeigten eine mehr deutliche grauliche Schattierung. Die Kultur konnte vom Agar nur mechanisch mittels Oese entfernt werden oder ging nach langstündigem Stehen mit physiol. Kochsalzlösung in die Form von Häutchen und Bröckchen verschiedener Größe über.

Die Morphologie der einzelnen Vibrionen verhielt sich folgendermaßen: Die 24stünd. Kultur stellt keine Abweichungen von der Norm vor. Die typische Vibrionenform änderte sich aber im weiteren Ver-

laufe. Schon nach 2—3 Tagen erschienen in der Kultur Zeichen einer Autolyse in Form kleiner Kügelchen, deren Zahl sich im Laufe der Zeit vergrößerte, so daß eine 7tägige Kultur fast ausschließlich aus kugelförmigem Zerfall bestand, in welchem nur selten einzelne Vibrionen anzutreffen waren. Gleichzeitig erschienen verschiedene Involutionsformen der Vibrionen, die sich vergrößerten und sich in Fäden und Spirillen umwandelten. Die Autolyse kam desto später zustande, je größer die Zahl der Ueberimpfungen des atypischen Stammes war. In Gelatinestichkulturen rief diese Abart der Vibrionen eine viel langsamere Verflüssigung hervor als der Ausgangsstamm. Zwar traten die ersten Merkmale der Verflüssigung gleichzeitig beim Ausgangs- wie beim modifizierten Stamm auf, nach 48 Std., später aber verlangsamte sich die Intensität der Verflüssigung beim modifizierten Stamm ganz auffallend.

Beträchtlich waren auch die Abweichungen, die die atypische Abart beim Wachstum auf Fleisch- und Peptonwässer zeigte. Das Wachstum in den erwähnten Medien ist nicht diffus, vielmehr entstehen kleine Bröckchen, die allmählich zu Boden fallen. Eine Häutchenbildung auf der Oberfläche konnte kaum beobachtet werden. Die Bildung von Bröckchen fand ebenfalls in Bouillon statt, war aber nicht so scharf ausgesprochen. Bei mikroskopischer Beobachtung des hängenden Tropfens sah man Klümpchen von zusammengeklebten Vibrionen sowie einzelne unbewegliche oder ganz schwach bewegliche Vibrionen. Einige Klümpchen zeigten kreisende Bewegung um ihre Achse.

Auf den übrigen Nährböden war das Wachstum des Ausgangs- und des modifizierten Stammes identisch. Beide riefen gleichzeitig Hämolyse auf dem Blutagar (Kaninchenblut) hervor, veränderten die Lackmusmolke nicht und riefen Gerinnung von Milch hervor.

Was die biologischen Reaktionen betrifft, so bestand, abgesehen von der oben erwähnten Abweichung in Beziehung der Gelatineverflüssigung, kein Unterschied unter den beiden Stämmen: Stärke wurde gleich intensiv zersetzt, die Indolbildung der Abart war vom selben Grade wie beim Ausgangsstamm.

Interessant ist die Beziehung der beschriebenen Abart zu den Immunreaktionen. Da dieser Stamm keine Emulsion gab, so wurde die Kultur mechanisch vom Agar getrennt und die Abschwemmung mit Glasperlen geschüttelt. Auf diese Weise gelang es, eine scheinbar gleichmäßige Emulsion zu erzielen, in der aber nach Verlauf einiger Stunden ein Bodensatz sich bildete. Wenn man eine solche Emulsion, von der der Bodensatz abgeschieden war, oder eine durch Verreiben des Materials mittels der Oese angefertigte Emulsion mit einem spezifischen Choleraserum versetzte (der Titer des Serums erreichte 1:12000), so erwies sich, daß das Serum keine Wirkung auf die Emulsion ausübte: der modifizierte Stamm wurde sogar von Verdünnungen des Serums 1:50 nicht agglutiniert. Versuche der Erschöpfung des Serums (in Verdünnungen von 1:10 bis 1:200) ergaben, daß die Agglutinine von unserer Abart nicht absorbiert werden: nach dem Versuche agglutinierte das Serum den Ausgangsstamm bis zum früheren Titer. Kaninchen wurden mit beiden Stämmen immunisiert. Der Ausgangsstamm gab ein Serum mit einem Titer 1:3200, der modifizierte — 1:800, aber nur für den Ausgangsstamm.

Sowohl das mittels Injektion des Ausgangsstammes erzielte Serum als auch das Serum des mit dem modifizierten Stamme immunisierten

Kaninchens konnten keine Agglutination des modifizierten Stammes in irgendwelcher Verdünnung hervorrufen.

Bemerkenswert war auch folgendes: Mit dem Ausgangsstamme wurde ein Kaninchen von 3350 g Gewicht immunisiert, mit dem modifizierten Stamm ein 2210 g schweres Kaninchen. Beide waren schwarz, männlich. Beide bekamen gleiche Mengen der entsprechenden Kulturen. Das 1. Kaninchen verlor im Verlaufe von 24 Tagen 735 g, d. h. 22 Proz. seines Gewichtes, während das 2. während derselben Periode der Immunisation nur um 45 g, d. h. 2 Proz., sein Gewicht verminderte.

Mit den erwähnten 2 Kaninchenseren wie auch mit einem anderen Choleraserum vom Titer 1:12000 wurde die Reaktion der Alexinfixation durchgeführt. Die Resultate waren folgende:

Ausgangsstamm mit seinem Serum		Ausgangsstamm mit dem Serum des modifizierten Stammes		Ausgangsstamm mit dem Serum eines anderen Cholerastammes	
Serummenge	Resultat	Serummenge	Resultat	Serummenge	Resultat
0,1	Hämolyse	0,1	Hämolyse	0,1	Hämolyse
0,05		0,05		0,05	
0,025		0,025		0,025	
0,0125		0,0125		0,0125	
Kontrolle des Antigens		Kontrolle des Antigens		Kontrolle des Antigens	
Kontrolle des Serums		Kontrolle des Serums		Kontrolle des Serums	

Der modifizierte Stamm mit seinem Serum		Der modifizierte Stamm mit dem Serum des Ausgangsstammes		Der modifizierte Stamm mit dem Serum eines anderen Choleravibrio	
Serummenge	Resultat	Serummenge	Resultat	Serummenge	Resultat
0,1	Hämolyse	0,1	Hämolyse	0,1	Hämolyse
0,05		0,05		0,05	
0,025		0,025		0,025	
0,0125		0,0125		0,0125	
Kontrolle des Antigens		Kontrolle des Antigens		Kontrolle des Antigens	
Kontrolle des Serums		Kontrolle des Serums		Kontrolle des Serums	

Die Emulsion der atypischen Modifikation wurde im Wasserbade 1 Std. lang bis auf 80—100° erhitzt und dann wieder auf Agglutinabilität mit einem Choleraserum geprüft. Das Resultat war ebenfalls negativ.

Der modifizierte Stamm wurde hiernach systematisch auf alkalischem Nähragar fortgezüchtet. Im Verlaufe von 2 Mon. erfuhr der Stamm 56 Passagen, wonach er in morphologischer, biochemischer und serologischer Richtung wieder die Eigenschaften des Ausgangsstammes erwarb. Bemerkenswert sind noch einige Eigentümlichkeiten seines Verhaltens während der Ueberimpfungen. Je größer die Zahl der Passagen war, desto später begann die Autolyse. Kurz vor dem endgültigen Uebergang zur Norm gab die autolysische Abart in 5 Passagen Kulturen, die vom Choleraserum noch nicht agglutiniert werden konnten,

die aber schon die Agglutinine komplett adsorbierten und folglich die Agglutinationsfähigkeit des Serums für den Ausgangsstamm aufzuheben imstande waren. Der Uebergang dieser Kulturen zum normalen Zustande trat rasch auf. Schon beim Ueberimpfen der eben beschriebenen Kulturen, die die Agglutinine adsorbierten, ohne agglutiniert zu werden, wurde eine Kultur erhalten, die beim Abspülen eine verhältnismäßig gleichmäßige Emulsion gab, welche bis zum Titer 1:200 von einem Serum, dessen Titer 1:12000 erreichte, agglutiniert werden konnte. Die folgende Passage ergab eine Kultur, die keine vollständig gleichmäßige Emulsion gab, die aber bis zum Endtiter agglutiniert wurde. Ebenso rasch wurde die Beweglichkeit der Vibrionen hergestellt. Einige Passagen mehr brachten die Kultur ganz zu ihrem normalen Zustand ebenfalls im Sinne der Fähigkeit, eine gleichmäßige Emulsion zu bilden. Gleichzeitig gelang es, aus den aufbewahrten alten Bouillon- und Agarkulturen die atypische Abart der Vibrionen mit allen ihren charakteristischen Merkmalen zu züchten.

Schlußfolgerungen.

1) Die Methode der Selektion einzelner Kolonien aus der Kultur der Choleravibrionen weist auf das Vorhandensein individueller Kolonien von verschiedenen Graden der Agglutinabilität bis zum vollständigen Verlust derselben hin. — 2) Eine Auslese der Individuen, die sich gegen das agglutinierende Serum refraktär verhalten, ergibt eine unbewegliche, autolysierende Abart des Choleravibrios, die die Rezeptoreneigenschaften des typischen Choleravibrios verloren, die antigenen Eigenschaften beibehalten hat. — 3) Das Vorhandensein solcher atypischer Formen der Choleravibrionen in der Natur kann die Diagnose der Cholera in höchstem Maße erschweren.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. W. Barikin, nach dessen Idee und Methodik und unter dessen Leitung die vorliegende Arbeit durchgeführt wurde, meinen tiefsten Dank auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung verschiedener Wasserstoffionen-Konzentrationen auf das Wachstum des Coli-Bacillus in künstlichen Nährböden.

[Aus der bakteriologisch-hygienischen Abteilung des Städt. Hygienischen Universitäts-Instituts in Frankfurt a. M. (Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. H. Braun).]

Von **Ernst Speyer.**

Zahlreiche Untersuchungen haben uns gezeigt, welche Rolle die Wasserstoffionenkonzentration für die Lebensfähigkeit, das Wachstum

und die Toxinbildung der Bakterien hat. Es ist das Verdienst von L. Michaelis, die Methoden so ausgebaut zu haben, daß sie ohne Schwierigkeit auch beim bakteriologischen Arbeiten verwendbar sind.

Bei Verwendung dieser neueren Methoden hat sich nun gezeigt, daß das Optimum des Wachstums in den gewöhnlichen, bouillonhaltigen Nährböden für die meisten Bakterien in der Nähe des Neutralpunktes liegt, daß aber dennoch die einen Bakterien mehr eine saure, die anderen mehr eine basische Reaktion lieben; einige vertragen selbst stärkere Abweichungen der Wasserstoffionenkonzentrationen von ihrem Optimum noch gut, während andere schon bei relativ geringen Schwankungen ihr Wachstum einstellen oder zugrunde gehen. Die humanen und bovinen Tuberkelbazillen scheinen schwach saure Reaktion zu lieben (Dernby und Näslund), denn ihr Wachstumsoptimum liegt nach diesen Autoren bei der pH = 6,9—6,5, aber sie werden schon in einer Wasserstoffionenkonzentration abgetötet, die unter pH 4,5 liegt. Ishimori fand das Optimum für den humanen Typ in Glycerinbouillon bei pH 7,4—8,0, bei einem Stamm des bovinen Typs bei pH 5,8—6,9. Die grampositiven Enterokokken beispielsweise können bis zu der pH 2,36 wachsen (Kurt Scheer). Vom Bacillus bifidus gibt A. Adam an, daß er ein Wachstumsoptimum von der pH 5,5 bis 5,9 hat, also saurer als das des Tuberkelbazillus. Für den Diphtheriebazillus (Walbum) und den Colibazillus (Dernby, Scheer, Adam) wird ein Wachstumsoptimum von der pH etwa 7,0 angegeben, wenn auch für letzteren die Zahlen in den einzelnen Arbeiten voneinander abweichen. Schließlich sei noch der Tetanusbazillus als Beispiel derjenigen Bakterien angeführt, die am besten in schwach basischen Nährböden wachsen (Dernby und Allander).

Alle diese Angaben beziehen sich, wie bereits gesagt wurde, auf bouillonhaltige Nährböden. Es ist die Frage, ob die hier gefundenen Wasserstoffionenkonzentrationen auch für künstliche Nährböden Geltung haben, wie sie für die genaue Analyse und Untersuchung des Stoffwechsels der Mikroorganismen notwendig sind. In letzter Zeit haben H. Braun und C. E. Cahn-Bronner in systematischen Untersuchungen an den Bakterien der Coli-Typhus-Gruppe gezeigt, mit welch einfachen, chemisch genau bekannten Stoffen diese Bakterien zu leben und sich dauernd zu vermehren vermögen. C. E. Cahn-Bronner hat weiterhin gezeigt, daß diese in künstlichen Nährböden gewachsenen Keime sich anders verhalten, als diejenigen aus Bouillon, indem erstere zum Beispiel gegen höhere Temperaturen und gegen Desinfektionsmittel empfindlicher sind. Deshalb stellten wir uns zur Aufgabe, den Einfluß verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen auf das Wachstum der Mikroorganismen in künstlichen einfachen Nährböden zu untersuchen. Liegt doch die Annahme nahe, daß sie hier von besonderer Bedeutung sein wird. Die Versuche wurden mit Coli-Bazillen ausgeführt.

Verwendete Bakterien: Die zu den folgenden Versuchen verwandten 5 Coli-Stämme stammten sämtlich aus menschlichen Stühlen und wurden durch zweimaligen Plattensatz reingezüchtet. Die Eigenschaften der verwandten Bakterien zeigt die folgende Tabelle:

Coli-Stamm	Hängender Tropfen von Bouillon	Grampräparat von Agar	Schrägagar-röhrchen	Bouillon	Trypsin Bouillon
A	Kurze bis mittellange unbewegliche Stäbchen	Mittellange, gramnegative Stäbchen	Ueppiger weißer Belag nicht irisierend	Diffus getrübt Bodensatz	Indol positiv
E	MittellangeStäbchen zum Teil beweglich	Kurze u. mittellange gramnegative Stäbchen	Dichter weißer Belag irisierend	desgl.	desgl.
H	Kurze u. mittellange unbewegliche Stäbchen	Kurze gramnegative Stäbchen	desgl.	desgl.	desgl.
J	Mittellange und große unbewegliche Stäbchen und Fäden	Mittellange und große, gramnegative Stäbchen zum Teil Fäden	desgl.	desgl.	desgl.
K	MittellangeStäbchen, zum Teil beweglich	Kurze u. mittellange, gramnegative Stäbchen	desgl.	desgl.	desgl.

Die Bakterien wurden in regelmäßigen Abständen auf ihre Reinheit geprüft.

Zusammensetzung des künstlichen Nährbodens und Herstellung der verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen in diesem.

Für diese Versuche wurde ein Nährboden gewählt, der die für das Wachstum der Coli-Bazillen notwendigen Bestandteile enthielt und zugleich gestattete, die pH zu variieren, ohne die Zusammensetzung des Nährbodens wesentlich qualitativ zu ändern. Dazu wählte ich den von H. Braun und C. Cahn-Bronner angegebenen Milchsäure-Ammoniak-Nährboden und die Zuchtbedingungen, wie sie in dieser Arbeit beschrieben sind.

Dieser Nährboden enthieelt auf 100 ccm aqua redestill. folgende Substanzen: Ammoniumlaktat 0,6 ccm, — NaCl 0,5 g, ein Gemisch von primärem und sekundärem Kaliumphosphat (0,2 g) im Verhältnis von 1:4. Dieser Nährboden war schwach alkalisch.

Die Herstellung des Nährbodens modifizierte ich für meine Zwecke in folgender Weise: Durch Aenderung des Phosphatgemisches ließen sich innerhalb der Grenzen von pH 5,4 bis 7,5 die Wasserstoffionenkonzentrationen ändern. Um den Nährboden aber noch stärker sauer und basisch machen zu können, wurden ihm entsprechende Mengen von 1 Proz. H_3PO_4-Lösung bzw. 2 Proz. NaOH-Lösung zugesetzt. Die Aenderung bei der Herstellung des Nährbodens gegenüber der von H. Braun und C. Cahn-Bronner beschriebenen Methode bestand in folgendem: Das NaCl, das primäre und sekundäre Kaliumphosphat wurden dem redestill. Wasser als 10 Proz. wässrige Lösungen zugesetzt. Dadurch wurde das zeitraubende Wiegen überflüssig, da sich nun alle Stoffe mit der Pipette schnell und sicher dosieren ließen.

Zu berücksichtigen ist, daß es in dem mit KOH versetzten Nährböden zu einem Verlust von NH3 kommt.

Löffler-Serum	Lackmusmolke	Traubenzucker-hohe Schicht	Milchzucker-hohe Schicht	Mannit-Lackmus Schrägagar	Maltose-Lackmus-Schrägagar	Saccharose Lackmus-Schrägagar
Keine Farbstoffbildung, keine Verflüssigung	Rot und trüb	Durchgewachsen u. vergoren	Durchgewachsen u. vergoren	Untenrot, oben violett	Rot	Blau
desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	Rot	desgl.	desgl.
desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.
desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	Violett	Violett
desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	desgl.	Rot	Blau

1) Amm. laktat 0,4 ccm
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ KH_2PO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
1 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O 3,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 4,45

2) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H O 5,0 „
10 „ KH_2PO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
1 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O 2,5 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 4,50

3) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ KH_2PO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
1 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 4,65

4) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ KH_2PO_4 in 100 g HO_2 2,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 5,40

5) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ KH_2PO_4 in 100 g H_2O 0,8 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 1,2 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 6,90

6) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 7,50

7) Amm. laktat 0,4 ccm
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 2,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 8,40

8) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 6,0 „
Aqua redesfill. ad 100,0 „
pH 9,00

9) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 8,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 9,25

10) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 10,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 9,45

11) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 12,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 9,60

12) Amm. laktat 0,4 „
10 g NaCl in 100 g H_2O 5,0 „
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O 2,0 „
2 „ KOH in 100 g H_2O 15,0 „
Aqua redestill. ad 100,0 „
pH 9,90

Im vorstehenden gebe ich eine Uebersicht über die Zusammensetzung der Nährlösungen und ihrer — nach dem Sterilisieren — festgestellten Wasserstoffionenkonzentration:

Von den so hergestellten Lösungen wurden je 5 ccm in Erlenmeyerkölbchen von 30 ccm Inhalt gebracht. Diese Kölbchen wurden 30 Min. im Dampftopf sterilisiert, ehe sie zum Versuch verwendet wurden.

Messung der Wasserstoffionenkonzentration.

Die Messung der pH erfolgte meistens nach der von Michaelis angegebenen Indikatorenmethode (Indikatoren und Komparator von Ernst Leitz, Berlin).

Bei Lösungen, deren pH über 8,4 lag, wurde zunächst mit der Gaskette gearbeitet (Apparatur im allgemeinen nach Michaelis mit folgenden Modifikationen: statt Stöpselrheostat Kompensationsschaltung von Hartmann u. Braun; Wasserstoffgas, gewonnen im Kippschen Apparat, gereinigt durch Pyrogallussäure und Kalilauge). Die Gaskette wurde hier deshalb benutzt, weil über 8,4 keine Indikatoren-Vergleichslösungen zu erhalten waren. Da aber das Phenolphthalein für die Stufe von pH 8,4 bis 10,0 ein guter Indikator ist, so gelang es nach Eichung an der Gaskette Vergleichslösungen mit Phenolphthalein herzustellen und damit bei den weiteren Messungen für die pH über 8,4 von der Gaskette einigermaßen unabhängig zu werden. Von den Nährlösungen verschiedener Wasserstoffionenkonzentrationen über 8,4 wurden je 6 ccm mit 1 ccm Phenolphthaleinlösung (0,5 g Phenolphthalein puriss., 100 ccm Alkohol absol., 100 ccm aqua redest.) in Reagensröhrchen gebracht und diese zugeschmolzen.

Allerdings sei ausdrücklich hervorgehoben, daß es sich bei den pH-Werten über 8,4 nur um Annäherungswerte handelt. Denn es mußte mit der Möglichkeit einer Vergiftung der Elektroden der Gaskette in ammoniakhaltigen Flüssigkeiten gerechnet werden. Die Phenolphthaleinvergleichslösungen können außerdem Farbänderungen erleiden. Wir wollen in der vorliegenden Veröffentlichung die pH-Werte 9,0 bis 9,9 trotzdem beibehalten, um nicht für diese Fälle neue Bezeichnungen einführen zu müssen, sind uns aber dessen bewußt, daß sie nicht immer exakt bestimmbar waren.

Das Beimpfen der Nährböden: Die 1. Uebertragung der Bakterien in den künstlichen Nährboden erfolgte von einer Schrägagarkultur. Bei der weiteren Fortführung in Passagen erfolgte die Keimübertragung vom beimpften zum unbeimpften Kölbchen durch je 3 Oesen, da selbst in den optimalen Wasserstoffionenkonzentrationen des Milchsäure-Ammoniak-Nährbodens eine Vermehrung der Keime nur erfolgte, wenn sie in genügender Menge übertragen wurden.

Bei dieser Art der Keimübertragung konnten indessen Bedenken auftauchen: beim Ueberimpfen der Keime findet nämlich auch eine Mitübertragung der Nährlösung statt, wodurch eine Aenderung der pH möglich sein konnte.

Die folgenden Versuche dienten der Klärung dieser Frage:

1. a) In 5 ccm einer Milchsäure-Ammoniak-Nährlösung der pH 4,5 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 6,9 gebracht.
   b) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 4,5 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 9,9 gebracht.

c) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 4,5 wurden 3 Oesen einer Aqua redest. gebracht.

2. a) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 6,9 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 4,5 gebracht.
   b) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 6,9 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 9,9 gebracht.
   c) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 6,9 wurden 3 Oesen einer Aqua redest. gebracht.
3. a) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 9,9 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 4,5 gebracht.
   b) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 9,9 wurden 3 Oesen einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 6,9 gebracht.
   c) In 5 ccm einer Milchs.-Amm.-Nährlös. der pH 9,9 wurden 3 Oesen einer Aqua redest. gebracht.

Diese Lösungen wurden nun 30 Minuten im Brutschrank belassen, und dann mittels Gaskette und Indikatoren ihre pH geprüft.

Das Ergebnis dieser Versuche ist, daß durch die Uebertragung von 3 Oesen eine Aenderung der pH bei der gewählten Versuchsanordnung nicht eintritt. Wir dürfen also die vor dem Beimpfen festgestellte pH auch nach dem Beimpfen als die Ausgangs-pH betrachten.

Die Züchtungsversuche bei verschiedenen pH.

Die 5 Colistämme wurden zuerst in dem oben beschriebenen Milchsäure-Ammoniak-Nährboden gezüchtet, dessen pH 6,9 ist. Ueppiges Wachstum trat bei allen 5 Stämmen schon 18 bis 24 Stunden nach der Einsaat ein. Die dauernde Weiterführung in Passagen gelang mühelos, und es war selbst nach 45 Passagen keinerlei Störung des Wachstums zu beobachten. Bei der Prüfung auf Kohlenhydratspaltung und auf andere ernährungsphysiologische Eigenschaften in den gebräuchlichen Nährböden zeigten sich keinerlei Differenzen gegenüber den Ausgangsstämmen.

Ganz analog verhielten sich die Bakterien in den Nährböden von der pH 5,4 bis 8,4. Auch hier war schon nach 24 Stunden eine Trübung der Lösung als sichtbares Zeichen des Bakterienwachstums eingetreten.

Die Wachstumsgrenze nach der sauren Seite lag für alle untersuchten Stämme bei der pH 4,5. Jenseits dieser Grenze ließ sich mit dem verwandten Nährboden keine Keimvermehrung mehr erzielen. Allerdings zeigte es sich deutlich, daß sich jenseits der pH 5,4 die Wachstumsbedingungen für die Keime verschlechtert hatten. Zwar ließen sich die Bakterien bis zu der pH 4,5 in Passagen züchten. Manchmal trat das Wachstum schon nach 24 Stunden ein, meist nach 2×24 Std., gelegentlich auch erst nach 4×24 Std. In einem Teil der Nährflüssigkeiten von der pH 4,5 trat selbst nach 12tägiger Bebrütung kein Wachstum ein. — Bemerkenswert ist weiterhin, daß sich ein Anwachsen der Keime in der pH 4,65 und 4,50 nur dann erzielen ließ, wenn sie aus einem Medium kamen, dessen Anfangs-pH 5,4 oder noch darunter lag.

Was das Wachstum der Bakterien in basisch reagierenden Nährböden betrifft, so ergaben die Versuche folgendes: Mit Ausnahme von Stamm E ließen sich alle anderen Stämme bis zu der pH 9,25 in Passagen züchten. Stamm E ließ sich sogar bis zu der pH 9,60 in Passagen fortführen und trübte den Nährboden schon nach 24 bis 2×24 Stdt. — Bei den anderen Stämmen erfolgte in der pH 9,60

nur dann Wachstum, wenn sie aus einem Kulturmedium abgeimpft wurden, dessen pH 5,4 oder noch saurer war.

Morphologie der in verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen gewachsenen Bakterien.

Was die Morphologie der bei verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen gezüchteten Bakterien betrifft, so zeigte es sich bei der Untersuchung im hängenden Tropfen und bei der Gram-Färbung hitzefixierter Präparate, daß die im künstlichen Nährboden gewachsenen Bakterien kürzer und schlanker waren als die in Bouillon gezüchteten, daß aber die unter verschiedener pH gewachsenen Keime keine Differenzen untereinander aufweisen.

Das pH-Wachstums-Optimum.

Die vorangehenden Versuche hatten gezeigt, daß die untersuchten Coli-Stämme im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden innerhalb der Grenzen von der pH 4,50 bis 9,60 sich zu vermehren vermochten. Es ist indessen aufgefallen, daß die Schnelligkeit des Wachstums innerhalb dieser weiten Grenzen keineswegs die gleiche war. Wenn es daher galt, die für das Wachstum günstigste pH für den benutzten Nährboden und die untersuchten Stämme zu finden, so dürfen die stark sauren und die stark basischen ausscheiden. Innerhalb der Grenze von der pH 5,4 bis 8,4 schien allerdings zunächst kein Unterschied zu bestehen, denn die Trübung trat bei ihnen regelmäßig schon nach 24 Std. ein und schien in allen Kölbchen gleich stark zu sein. — Da der Trübungsgrad kein genügend exakter Maßstab der Wachstumsintensität ist, wurden noch Keimzählungen vorgenommen. Dies geschah auf folgende Weise:

Von den bebrüteten Kölbchen wurden jeweils 0,1 ccm entnommen und mit physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen von 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000, 1:1 Million und 1:10 Millionen hergestellt. Von diesen Verdünnungen wurden je 1 ccm mit 15 ccm flüssigem Agar vermischt, in Petrischalen, gegossen und 24 Std. bebrütet. Die Kolonien jeder Platte wurden mit dem von M. Neisser angegebenen Zählapparat gezählt, und zwar entweder alle Platten total oder alle Platten partiell mit dem Zählkeil. Diese Zählungen wurden nur mit dem Stamm A. vorgenommen.

Die Vorversuche, bei denen nur Keime aus der pH 6,9 verwandt wurden, dienten einmal der Ermittelung der Verdünnung, bei der isolierte, gut zählbare Kolonien wuchsen, — und dann zur Ermittlung der Genauigkeitsgrenzen der Methode. Als brauchbar erwiesen sich die Verdünnungen von 1:1 Million und 1:10 Millionen, die zu den weiteren Versuchen verwendet wurden. Die Vorversuche zeigten, daß Schwankungen in der Keimzahl bei den verwendeten künstlichen Nährböden — trotz Einhaltung gleicher Bedingungen (Einsaat, pH, Temperatur usw.) um das Doppelte vorkamen. Man wird also nur dann Differenzen als wesentlich ansehen dürfen, wenn sie das mehrfache Multiplum betragen.

Als Beispiel der Bestimmung der Keimzahl in künstlichen Nährböden verschiedener pH diene folgender Versuch:

Es wurden 2 Kölbchen, die die Nährlösung von der pH 6,9 und 5,4 enthielten, zu gleicher Zeit mit je 3 Oesen beimpft, und 24 Std. bebrütet; hierauf

von dem Inhalt jedes Kölbchens Verdünnungen von 1:1 Million hergestellt und dann je 1 ccm dieser Verdünnungen zu je 2 Agarplatten verarbeitet. Bei der Auszählung nach 24stünd. Bebrütung wurden folgende Werte — berechnet auf 1 ccm des unverdünnten Inhaltes des Kölbchens mit der pH 6,9 — gefunden:

Das Kölbchen mit der pH 6,9 enthielt in 1 ccm
nach der ersten Platte 936,6 Millionen Keime;
nach der zweiten Platte 1045,4 Millionen Keime.
Das Kölbchen mit der pH 5,4 enthielt in 1 ccm
nach der ersten Platte 856,8 Millionen Keime;
nach der zweiten Platte 827,4 Millionen Keime.

Von den ausgeführten Versuchen sei noch das folgende Ergebnis der Keimzählungen mitgeteilt:

Das Kölbchen mit pH 4,60 enthielt in 1 ccm
nach der ersten Platte 108 Millionen Keime;
nach der zweiten Platte 121 Millionen Keime.
Das Kölbchen mit der pH 6,9 ergab in 1 ccm
nach der ersten Platte 705 Millionen Keime;
nach der zweiten Platte 667 Millionen Keime.
Das Kölbchen mit der pH 9,25 ergab in 1 ccm
nach der ersten Platte 264 Millionen Keime;
nach der zweiten Platte 302 Millionen Keime.

Die Keimzählungen zeigten ganz analoges Ergebnis wie die orientierenden Prüfungen mit Hilfe des Trübungsgrades: Sowohl bei stark saurer wie auch bei stark alkalischer Reaktion ist die Keimzahl im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden geringer, während in der Nähe des Neutralpunktes meist die höchsten Keimzahlen zu finden sind.

Erfolgt eine Anpassung der Bakterien an für ihr Wachstum ungünstige Wasserstoffionenkonzentrationen?

Es mag daran erinnert werden, daß bei allen Stämmen bei der pH 4,50 und 4,65 ein Wachstum nur dann zu erzielen war, wenn sie von einem Medium übertragen waren, dessen pH bei 5,4 lag, bzw. noch saurer war. Umgekehrt wuchsen die Stämme — E ausgenommen — jenseits von der pH 9,25 nur dann, wenn sie aus saurem Nährboden übertragen waren. Es lag daher nahe, an eine Anpassung der Bakterien zu denken.

Folgende Versuche wurden zur Klärung dieser Frage ausgeführt:

1. Es wurden Bakterien gewählt, die bereits mehrere Passagen in der pH 4,5 gewachsen waren. Aus diesen Nährlösungen wurden gleichzeitig beimpft:
   a) ein Kölbchen mit gewöhnlicher Bouillon (zur Kontrolle);
   b) je 2 Kölbchen mit der pH 4,5 (zur Kontrolle, ob die Passagen weiterzuführen waren);
   c) je 2 Kölbchen mit der pH 6,9;
   d) je 2 Kölbchen mit der pH 7,5;
   e) je 2 Kölbchen mit der pH 9,00
   f) je 2 Kölbchen mit der pH 9,25
   g) je 2 Kölbchen mit der pH 9,60.

Dieser Versuch wurde mehrmals wiederholt und zeigte stets annähernd das gleiche Ergebnis; in allen Kölbchen trat meist nach 24 Std. eine Trübung auf; bei der pH 9,60 meist erst nach 3×24 Std., bisweilen blieb sie hier auch ganz aus.

2. Die zweite Versuchsreihe galt der Prüfung des Bakterienwachstums bei Uebertragen von basischen in saure Nährböden. Gewählt wurden solche Bakterien, die mehrere Passagen in der Lösung von der pH 9,25 gewachsen waren. Aus dieser wurden gleichzeitig beimpft:
   a) 1 Kölbchen mit gewöhnlicher Bouillon (zur Kontrolle);
   b) je 2 Kölbchen mit der pH 9,25 (zur Kontrolle, ob die Passagen weiterzuführen waren);
   c) je 2 Kölbchen mit der pH 6,90;
   d) je 2 Kölbchen mit der pH 5,40;

e) je 2 Kölbchen mit der pH 4,65;
f) je 2 Kölbchen mit der pH 4,50.

Stets zeigte sich das gleiche Ergebnis: Bis zu der pH 5,4 trat nach 24 Std. Wachstum ein; in der pH 4,65 und 4,50 selbst nach 14tägiger Bebrütung nicht.

Ueber diese Versuche läßt sich demnach folgendes sagen:

1.) Bei der Uebertragung aus einem stark sauren (pH 4,50) in einen basischen Milchsäure-Ammoniak-Nährboden kann sich ein Colibazillus selbst noch in solchen Wasserstoffionenkonzentrationen (pH 9,60) vermehren, in denen er bei Uebertragung aus neutralem oder basischem Nährboden nicht wächst.

2. Dagegen tritt bei Uebertragung aus einem basischen in sauren Milchsäure-Ammoniak-Nährboden von der pH unter 5,40 kein Wachstum ein.

Die Frage, ob eine Anpassung der Bakterien an eine Milchsäure-Ammoniak-Lösung erfolgt, deren pH für ihr Wachstum ungünstig ist, läßt sich demnach in folgender Weise beantworten: An die stark sauren Milchsäure-Ammoniak-Nährlösungen läßt sich eine Anpassung erzielen, wenn man die Keime stufenweise allmählich in immer sauerere Nährlösung überträgt; die auf diese Weise gezüchteten Bakterien unterscheiden sich dann von den in neutralen und basischen Nährlösungen gewachsenen dadurch, daß sie sich in den stark basischen zu vermehren imstande sind, in denen die Bakterien aus weniger sauren Lösungen nicht mehr wachsen können. Die erworbene Resistenz dieser in stark sauren Lösungen gezüchteten Bakterien ist also nicht nur gegenüber der sauren, sondern auch gegenüber der stark basischen ungünstigen pH nachweisbar. Dagegen besitzen die Bakterien, die bei einer pH gewachsen sind, die zwischen 6,90 und 9,25 liegt, die Fähigkeit nicht, in einem Milchsäure-Ammoniak-Nährboden zu wachsen, der saurer ist als pH 5,40. — Bemerkenswert ist außerdem, daß die meisten in basischen Nährböden gezüchteten Stämme — zum Unterschied von den in sauren Lösungen kultivierten — bei der pH 9,60 nicht wuchsen. Während also bei Züchtung im sauren Medium die Bakterien die Fähigkeit erwerben, nicht nur in stark sauren, sondern auch in stark basischen Lösungen sich zu vermehren, tritt eine solche Festigung gegenüber ungünstigen sauren und basischen Lösungen nicht ein bei Bakterien, die in Medien der pH 5,40 bis 9,60 wuchsen.

Im Anschluß an diese Versuche habe ich noch geprüft, ob beim Ueberimpfen aus stark basischen in stark sauere Nährflüssigkeiten eine Abtötung der Keime eintritt:

Der Inhalt von 2 Kölbchen mit der pH 9,00, der nach 24stünd. Bebrütung starke Trübungen aufwies, wurde zentrifugiert, die Keime in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt (um sie völlig von dem basischen Medium zu reinigen) und nochmals zentrifugiert. Hierauf wurden die Bakterien des einen Kölbchens in 10 ccm Lösung von der pH 4,5 — die des anderen in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Von dieser Aufschwemmung wurden:

a) sofort,
b) nach 30 Minuten,
c) nach einer Stunde,
d) nach 2 Stunden,
e) nach 24 Stunden,
f) nach 2×24 Stunden je 2 Agarröhrchen beimpft. In allen Röhrchen waren nach 24 Std. Bebrütung Bakterien gewachsen.

Die aus dem basischen in saures Medium (pH 4,50) übertragenen Keime wurden also nicht abgetötet: da kein Wachs-

tum in saueren Nährboden erfolgte, muß angenommen werden, daß das Wachstum gehemmt wurde.

Aenderung der pH während des Wachstums im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden.

Von Interesse ist es, die Aenderungen der pH kennen zu lernen, die während des Wachstums der Bakterien im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden auftraten. Zur Beantwortung dieser Frage wurden die Nährlösungen von verschiedener pH nach ihrer Beimpfung mit den verwendeten Coli-Stämmen bis zu 14 Tagen bebrütet und mit Hilfe der Michaelisschen Indikatoren auf ihre pH untersucht. Dabei ergab sich folgendes:

1) Bei einer Anfangs-pH der Lösung von 4,50 wurde nach etwa 4×24 Std. Bebrütung eine pH von 6,1—6,4 erreicht, die sich auch nach 10tägiger Bebrütung nicht mehr zu ändern pflegte. Doch wurden nach einer Bebrütung von 14 Tagen gelegentlich Werte bis pH 7,00 gefunden.

2) Bei einer Anfangs-pH von 4,65 wurde nach 14 Tagen ein Wert von pH 6,00—6,80 erreicht.

3) Die Nährlösungen von der Anfangs-pH 5,40 ergaben schon am 3. Tage konstante Werte, die stets zwischen pH 6,30 und 6,40 lagen und auch nach 14tägiger Bebrütung keine Aenderungen mehr erfuhren.

4) Die Nährlösungen von der Anfangs-pH 6,90 erreichten schon nach 3 Tagen Werte, die bis auf seltene Ausnahmen stets zwischen pH 7,30 und 7,40 lagen.

5) Nach 24 Std. Bebrütung fand ich bei der Nährlösung von der Anfangs-pH 7,50 stets den Wert von pH 7,40. Am 2. Tage erreichte sie Werte, die sich auch nach 14tägiger Bebrütung nicht mehr änderten und zwischen pH 7,30 und 7,50 lagen.

6) Die Nährlösungen von der Anfangs-pH 9,00[1]) erreichten am 5. Tage mit großer Regelmäßigkeit den Wert von pH 7,50.

7) Die Nährlösungen von der Anfangs-pH 9,25 und 9,45 erreichten in 5 Tagen den Wert von pH 7,7 und 7,8, während diejenigen von der Anfangs-pH 9,60 in den Grenzen von pH 7,80—8,40 schwankten; meist wurde 7,80 erreicht.

Zusammenfassend läßt sich über die Aenderung der pH im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden durch eine Anzahl Coli-Stämme folgendes aussagen:

Die Ausgangs-pH von 7,50 wurde im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden auch bei 14tägiger Bebrütung nicht wesentlich geändert. In Nährlösungen, deren Ausgangs-pH unterhalb oder oberhalb pH 7,50 liegt, tritt eine Aenderung der pH ein und zwar in der Richtung zur Annäherung an den Neutralpunkt. (S. Tabelle.)

Diese Ergebnisse stimmen mit denen von Cluzet, Rochaix und Kofman, die während der Drucklegung unserer Arbeit erschienen sind, überein.

Wachstum in Nährbouillon.

Die oben beschriebenen Versuche haben gezeigt, innerhalb welcher Grenzen die Coli-Bazillen im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden sich zu vermehren imstande sind. Es fragt sich, ob diese Werte die Wachstumsgrenzen auch für andere Nährflüssigkeiten sind, oder ob es sich um einen Spezialfall handelt.

---

1) Wie Versuche, die S. Kondo im hiesigen Laboratorium ausführte, zeigten, ändert sich auch die Reaktion stark alkalischer **unbeimpfter** Milchs.-Amm.-Nährböden bei mehrtägiger Bebrütung, und zwar werden dieselben gleichfalls weniger alkalisch. Darüber wird später in anderem Zusammenhange berichtet werden.

Tabelle.

Anfangs-pH der Nährlösungen	pH nach 24 Std. Bebrütung	pH nach 48 Std. Bebrütung	pH nach 72 Std. Bebrütung	pH nach 96 Std. Bebrütung	pH nach 14-tägiger Bebrütung	Zahl der geprüften Nährlösungen
4,5	5,8—6,0	—	6,3—6,4	6,1—6,4	6,1—7,0 meist 6,3	15
4,65	5,6—6,2	5,7—6,4	—	6,3—6,8	6,0—6,8 meist 6,4	25
5,4	6,0—6,4	—	—	—	6,3—6,4 meist 6,3	12
6,9	7,2	7,3—7,4	7,3—7,4	—	7,1—7,4 meist 7,3	17
7,5	7,4	7,4—7,5 meist 7,5	7,4—7,5 meist 7,5	7,4—7,5 meist 7,5	7,3—7,5 meist 7,5	22
9,00	7,9	—	7,8	—	7,5	10
9,25	—	—	—	7,7	7,7—7,8 meist 7,7	12
9,45	—	—	7,8	—	7,7—7,8 meist 7,8	9
9,60	—	7,7—7,8	7,7—7,8	—	7,8—8,4 meist 7,8	11

Zur Beantwortung dieser Frage wurden entsprechende Versuche in gewöhnlicher Nährbouillon angesetzt.

Die benutzte Bouillon wurde folgendermaßen hergestellt: 1,000 ccm einer 1proz. Lösung Pepton Frieber (hergestellt aus Fibrin des Schüttelblutes von Schlachtrindern), werden mit 5 g NaCl und 0,25 g Liebig-Fleischextrakt versetzt, hierauf durch Zusatz von NaOH und KOH neutralisiert (mit Lackmuspapier als Indikator) und durch Zusatz von 7 ccm einer Normal-Soda-Lösung alkalisiert. Nach $1^1/_2$-stünd. Sterilisieren im Dampftopf und hierauf folgendem Filtrieren betrug die pH dieser Bouillon 7,00. Von dieser Bouillon wurden durch Zusatz von Phosphatgemisch, bzw. 2 Proz. KOH und 2 Proz. H_3PO_4 die folgenden Nährlösungen hergestellt:

Bouillon	98,0	Bouillon	98,0
10 g KH_2PO_4 in 100 g H_2O	2,0	10 g KH_2PO_4 in 100 g H_2O	2,0
2 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O	7,0	2 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O	6,0
pH	= 4,00	pH	= 4,50
Bouillon	98 0	Bouillon	98,0
10 g KH_2PO_4 in 100 g H_2O	2,0	10 g KH_2PO_4 in 100 g H_2O	2,0
2 „ H_3PO_4 in 100 g H_2O	2,5		
pH	= 5,8	pH	= 6,40
Bouillon	98,0	Bouillon	98,0
10 g KH_2PO_4 in 100 g H_2O	1,0	10 g K_2HPO_4 in 100 g H_2O	2,0
10 „ K_2HPO_4 in 100 g H_2O	1,0		
pH	= 6,70	pH	= 7,60
Bouillon	98,0	Bouillon	98,0
10 g K_2HPO_4 in 100 g H_2O	2,0	10 g K_2HPO_4 in 100 g H_2O	2,0
2 „ KOH in 100 g H_2O	14,0	2 „ KOH in 100 g H_2O	16,0
pH	= 9,40	pH	= 9,60

Diese Nährlösungen wurden mit den verschiedenen Coli-Stämmen beimpft und zwar so, daß die erste Einsaat der Keime in die Bouillon mit der pH 7,60 erfolgte und von hier aus die basischeren und saueren Närlösungen beimpft wurden. Es zeigte sich in Uebereinstimmung mit den Angaben anderer Autoren Wachstum innerhalb der Grenzen von pH 4,50 bis 9,40. In allen diesen Närlösungen ließen sich die Bakterien auc in Passagen fortzüchten, und die Trübung der Bouillon erfolgte in der Regel nac 24 Stunden. — Selbst bei Uebertragung aus stärker sauerem Medium (pH = 4,5) blieb die Wachstumsgrenze auf der basischen Seife dieselbe (pH 9,4).

Alle untersuchten Stämme zeigten in diesen Versuchen keinerlei Verschiedenheiten untereinander.

Vergleicht man das Wachstum der Colibazillen in Bouillon mit dem im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden, so zeigt sich Folgendes: In beiden Nährböden liegt die Wachstumsgrenze an der sauren Seite bei der pH 4,5. Auf der basischen Seite erfolgt in Bouillon das Wachstum bis zu der pH = 9,40, im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden bis zu der pH = 9,25 bis 9,60. Ein Unterschied besteht darin, daß in stark saurer Bouillon (pH 4,5) die Coli-Bazillen sofort züchtbar sind, im künstlichen Nährboden müssen sie dagegen an diese Reaktion erst gewönt werden.

Zusammenfassung.

An 5 aus menschlichen Stühlen gezüchteten Coli-Stämmen wurde die Rolle der Wasserstoffionenkonzentration für das Wachstum in künstlichen Nährböden geprüft. Als Nährboden wurde eine Milchsäure-Ammoniak-Nährlösung mit Zusatz von NaCl und einem Gemisch von KH_2PO_4 und K_2HPO_4 benutzt. (H. Braun und C. E. Cahn-Bronner). Die Wasserstoffionenkonzentration wurde variiert:

a) durch quantitative Aenderung des Puffergemisches (bei der pH 5,40 bis 7,50);

b) durch Zusatz von Phosphorsäure zur Nährlösung, die nur KH_2PO_4 enthielt (bei der pH 4,65 und 4,50); —

c) durch Zusatz von KOH zur Nährlösung, die nur K_2HPO_4 enthielt (bei der pH 8,40 bis 9,90): bei den gewählten Versuchsbedingungen handelt es sich allerdings bei den pH-Werten 8,4—9,9 nur um Annäherungswerte.

Es ergab sich Folgendes:

1. Die Coli-Bazillen können bei der pH 4,50 bis über 9,00 wachsen.

2. Keimzählungen zeigten, daß das Wachstumsoptimum im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden um pH 7,00 liegt. Zwischen pH 5,40 und 8,40 ergaben die Keimzählungen keine großen Unterschiede. Nach oben und unten von diesen Grenzen war eine deutliche Keimabnahme erkennbar.

3. Durch Abimpfen in Milchsäure-Ammoniak-Nährlösungen, deren Reaktion immer saurer gewählt wird, gelingt es, die Keime allmählich an stark saure Reaktion zu gewöhnen (von pH 5,4 bis pH 4,5); aus

neutralen oder basischen Nährböden direkt in stark saure überimpft, vermögen die Colibazillen nicht zu wachsen.

4. Solche an stark sauere Reaktionen angepaßten Keime wachsen auch in stark basischen künstlichen Nährlösungen, in denen sie sonst nicht gedeihen.

5. Durch das Wachstum der Coli-Bazillen im Milchsäure-Ammoniak-Nährboden tritt eine Aenderung der Wasserstoffionenkonzentration ein. Das Charakteristische ist, daß durch das Wachstum sowohl in alkalischen, wie in sauren Nährlösungen die Annäherung an den Neutralpunkt angestrebt wird.

6. Ungünstige saure Reaktion wird in Bouillon besser vertragen wie im künstlichen Nährboden.

Literaturverzeichnis.

Adam, Ueber die Bedeutung der Eigenwasserstoffzahl (des H-Ionen-Optimums) bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. 1922. H. 7—8.) — Braun u. Cahn-Bronner, Ueber die synthetischen Fähigkeiten pathogener Bakterien und ihr biologisches Verhalten unter einfachen Ernährungsbedingungen. (Ebenda. Bd. 86. 1921. H. 1; u. Biochem. Zeitschr. Bd. 131. 1922.) — Cahn-Bronner, Ungleichartige Ernährung als Ursache wechselnder Empfindlichkeit und veränderter antigener Eigenschaften der Bakterien. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 33. 1921.) — Clark, The reaction of bacteriologic culture media. (Journ. of Bact. Vol. 2. 1917.) — Cluzet, Rochaix Kofman, Concentrations Coptima et concentrations limites, en ions hydrogene, des cultures microbienner. (Compd. rend. de l' Acad. des sciene. Tome 178, Nr. 20. 1924.) — Dernby, La concentration optima en ions hydrogenes favorisant le développement de certains microorganismes. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1921.) — Dernby u. Allander, Studien über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum und die Toxinbildung der Tetanusbazillen. (Biochem. Zeitschr. Bd. 123. 1921.) — Dernby u. Näslund, Biochemische Studien über Tuberkelbazillen. (Ebenda. Bd. 132. 1922. H. 4—6.) — Ishimori, K., Ueber den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens auf das Wachstum der säurefesten Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 102. 1924. H. 3/.) — Michaelis u. Marcora, Die Säureproduktivität des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 14. 1912. H. 2.) — Michaelis, Die Bestimmung der Wasserstoffzahl durch Indikatoren. (Dtsch. med. iMWoch. 1920. Nr. 45.) — Michaelis, Vereinfachung der Indikatorenmethode. (Ebenda 1921. Nr. 17.) — Scheer, Ueber die Beziehungen der Darmbakterien zur Wasserstoffionenkonzentration. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 33. 1922. H. 1. — Scheer, Die Wasserstoffionenkonzentration und das Bacterium coli. (Biochem. ZZeitschr. Bd. 130. 1922. H. 4—6.) — Sörensen, Enzymstudien. II. (Biochem. Zeitschr. 1909. Bd. 21.) — Walbum, Studien über die Bildung der bakteriellen Toxine. (Biochem. Zeitschr. Bd. 129—130. 1922.)

Nachdruck verboten.

Methode der beschleunigten Ausflockungsreaktion bei Syphilis.

Von Prof. Dr. med. **M. Beniasch** und **D. Lerner**, Kiew.

Unsere Modifikation der Ausflockungsreaktion bei Syphilis zeichnet sich dadurch aus, daß anstatt des alkoholischen Herzmuskelextraktes eine aus demselben bereitete alkoholfreie Emulsion zur Anwendung gelangt.

Betrachten wir die Seroreaktion der Ausflockung bei Syphilis als eine Reaktion gegenseitiger Fällung zweier Kolloidkörper — der labilisierten Globuline des syphilitischen Serums und der Lipoide des Extrakts —, so muß die Anwesenheit in dem Gemisch Serum-Extrakt des Alkohols, welches die Lipoide löst, als ein Moment, das auf den Verlauf dieser Reaktion hemmend einwirkt, aufgefaßt werden.

Die Stabilität eines Kolloids in der Lösung wird in erster Linie durch den Grad der chemischen Affinität zwischen Kolloidkörper und Auflösungsflüssigkeit bedingt. Wässerige Lösungen hydrophiler Kolloide, welch letztere eine bestimmte Affinität zum Wasser besitzen, zeichnen sich durch eine relativ hohe Stabilität gegenüber den fällenden Substanzen aus (Elektrolyten so gut wie anderen Kolloidkörpern), während Suspensionskolloide, welche nur durch physikalische Kräfte in Lösung erhalten werden, wenig stabil sind und bereits unter Einwirkung schwacher Fällungskörper, wie z. B. alkalischer Salze, ausfallen.

Dasselbe gilt für alkoholische und allerlei andere Kolloidkörperlösungen. Wendet man diesen Grundsatz zur Ausflockungsreaktion bei Syphilis an, so muß auch hier ein bestimmtes Verhältnis zwischen dem Grad der Stabilität, oder, vice versa, der Präzipitationsfähigkeit der an dieser Reaktion teilnehmenden Kolloidkörper und dem Grad ihrer chemischen Affinität zur Flüssigkeit des Gemisches angenommen werden. Was die Globuline des Serums anbetrifft, so ist nach W. Weisbach, ihre Fähigkeit, Präzipitate mit Extraktlipoiden zu geben, eben durch Abnahme ihrer Stabilität in syphilitischem Serum und nur durch dieselbe bedingt.

Wie steht es um das andere, an der Reaktion teilnehmende Kolloid, die Extraktlipoide?

Der Grundextrakt ist ein alkoholischer, lipoidhaltiger Organauszug, und da der Alkohol die Lipoide löst, so ergibt sich eine vollkommen klare stabile Lösung. Zum Reaktiv bei der Ausflockungsreaktion wird es nur nach Abnahme der Stabilität dieser Lösung, was durch Zusatz von Wasser oder Salzlösung erreicht wird; es verwandelt sich dadurch in eine trübe Suspension. Jedoch inwiefern diese Suspension eine gewisse Menge Alkohol enthält, muß die Stabilität der Lipoide etwas höher als in reiner Wassersuspension bleiben; mit anderen Worten: die Fähigkeit Ausflockungsreaktion zu geben muß abgeschwächt werden.

Von diesen Erwägungen ausgehend, beschlossen wir, den Alkohol ganz aus den zur Ausflockungsreaktion dienenden Extrakten zu entfernen. Versuche mit Anwendung solcher alkoholfreier Extrakte sollten einerseits zeigen, inwiefern unsere Erwägungen richtig seien, andererseits sollten sie nachweisen, ob, falls eine solche Steigerung der Sensibilität auf diese Weise bereiteter Extrakte wirklich stattfindet, dies nicht auf Kosten der Spezifizität der Reaktion geschehe.

Methodik.

Bereitung des Alkoholextrakts. Alkoholextrakte aus Organen, welche durch Aether ausziehbare Fette enthalten (Neutralfette, nach Meinicke), taugen nicht zur Bereitung der alkoholfreien Lipoidemulsion, 1) weil sie nach Verdunstung des Alkohols eine sich schlecht emulgierende Masse hinterlassen, 2) weil die aus letzterer erhaltene

Emulsion bei der Ausflockungsreaktion unklare Resultate ergibt. Folgender Versuch illustriert anschaulich den Einfluß der durch Aether extrahierbaren Fette auf die Bildung von Niederschlägen im Serum. Der Aetherauszug des Herzmuskels wurde verdampft; es bildete sich ein kompakter, fettiger Belag, der bei Zerreibung in physiol. Kochsalzlösung in kompakte Klumpen zerfiel. Nach mehrmaligem Schütteln wurde ein Teil der Fette emulgiert, die so erhaltene Emulsion in verschiedenen Proportionen mit einer Reihe syphilitischer und normaler Sera gemischt. In diesen und in jenen fallen nach Zentrifugierung Niederschläge aus, welche beim Aufschütteln in Klümpchen zerfallen.

Zur Bereitung der Lipoidemulsion muß man also von einem Alkoholextrakt ausgehen, der frei von durch Aether ausziehbaren Fetten ist. Deshalb befolgten wir bei Bereitung des Extraktes die Vorschrift von Meinicke — mit einigen Abweichungen; diese sollten eine möglichst volle Entfernung der Neutralfette ermöglichen und eine möglichst große Sättigung des Alkoholextrakts mit Lipoiden erzielen: 1) der getrocknete und zu Pulver zerriebene Herzmuskel des Pferdes wird auf 3mal 24 Std. in Aether gelassen bei oftmaligem und energischem Schütteln; 2) nach Abfiltrieren des Aethers werden die Reste desselben durch Ausdrücken des Niederschlags in dichten Mull entfernt; 3) das Extrahieren mit Alkohol dauert nicht weniger als 3mal 24 Std.

Bereitung der alkoholfreien Lipoidemulsion.

Die für den Versuch nötige, mit einer Pipette abgemessene Extraktmenge wird in eine kleine, flache Glasschale gegossen. Für 1—2 ccm Extrakt wendet man bequem eine Schale von 3—6 cm im Durchmesser an, für 4—7 ccm eine gewöhnliche Petri-Schale. Die Schale mit dem Extrakt wird in den Brutschrank gestellt, wo sie bis zu völliger Verdunstung des Alkohols verbleibt; dies dauert gewöhnlich 15 bis 40 Min., je nach der Höhe der Extraktschicht. Auf dem Boden der Schale bleibt ein dünner, leicht matter Belag. Er wird zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen; diese wird in die Schale in einer Menge, welche der Hälfte der gebrauchten Extraktmenge gleicht, gezogen; nach 1—2 Min. quillt der Belag auf und wird leicht mit der Pipette vom Boden und den Wänden der Schale abgeschabt; es empfiehlt sich, die Schale auf eine dunkle Unterlage zu stellen, wodurch alle Teilchen des Belags gut sichtbar werden. Die Flüssigkeit mit den Klümpchen des Extrakts wird mit derselben Pipette in ein hohes Reagenzglas von nicht weniger als 2 cm Durchm. übertragen, in die Schale eine 2. gleiche Menge physiol. Kochsalzlösung gegossen, der Rest des Belags abgewaschen und die Flüssigkeit in dasselbe Reagenzglas übertragen. Eine gleichmäßige Emulsion wird leicht auf folgende Weise erhalten: Man hält das Reagenzglas mit der Flüssigkeit in der einen Hand an seinem oberen Rande, während mit den Fingern der anderen Hand 20—30 Sek. lang an dem unteren Teil geklopft wird; die Flüssigkeit schäumt stark; sie wird auf 1 Min. stehen gelassen und abermals während einiger Sekunden geschüttelt. Es bildet sich eine völlig undurchsichtige, gelblich gefärbte, homogene Flüssigkeit. Sie wird auf 5 Min. stehen gelassen und darauf nach einem bestimmten Titer mit physiol. Kochsalzlösung versetzt. Letztere wird langsam und teilweise, in 3—4 Por-

tionen, zugegossen und die Emulsion jedesmal leicht geschüttelt. Die so bereitete Emulsion bleibt 10—15 Min. stehen, wonach sie zum Gebrauch fertig ist.

Die Emulsion sieht wie eine vollkommen homogene, durchsichtigtrübe Flüssigkeit aus. Sie darf keinen Niederschlag während 18 bis 20 Std. geben. Emulsionen, welche bald ausfallende Niederschläge geben, sind nicht genügend von durch Aether extrahierbaren Fetten befreit und für die Versuche unbrauchbar.

Die Brauchbarkeit des Alkoholextrakts für die Ausflockungsreaktion nach Meinicke und die Brauchbarkeit der daraus bereiteten alkoholfreien Emulsion für die Reaktion nach unserer Methode fallen nicht immer zusammen; aus einem guten Extrakt bereitete Emulsionen können wenig sensibel sein und umgekehrt; ganz wie ein Extrakt, der für die Sachs-Georgi-Reaktion brauchbar ist, nicht genug sensibel für die Reaktion von Dold sein kann.

Die Emulsion (mit 0,5proz. ac. carbolicum aufbewahrt) behält ihre Eigenschaften während 10—15 Tagen; eine derart konservierte Emulsion muß vor dem Gebrauche tüchtig umgeschüttelt werden. Nach Ausfall eines sichtbaren Niederschlags wird die Emulsion unbrauchbar. Die unzweideutigsten Resultate werden jedoch mit einer Emulsion, die nicht älter als 24 Std. ist, erhalten.

Versuchsanordnung. Das zu untersuchende Serum wird bei 54—55° C während 25—30 Min. inaktiviert (aktive Seren geben gewöhnlich eine schwächere Reaktion). Mit chylösen, hämorrhagischen und ikterischen Seren gibt unsere Methode ganz befriedigende Resultate. Ein kleines Reagenzglas (1 cm im Durchmesser) wird beschickt mit 1) 0,2 ccm Serum, 2) 0,2 ccm physiol. Kochsalzlösung (leicht schütteln) und 3) 0,6 ccm Emulsion (das Gemisch wird durch wiederholtes Beklopfen des unteren Endes des Reagenzglases energisch durchschüttelt). Wird das Gemisch in den Brutschrank gestellt, so ist schon nach 3 Std. die endgültige Beurteilung der Reaktion möglich. Gemische mit negativen Seren bleiben unverändert; in Proben mit positiven Seren fallen nach 1—3 Std. in einzelnen Fällen schon nach 20—30 Min. große oder kleine, je nach Intensität der Reaktion, Flocken aus, bei völliger oder teilweiser Klärung des Gemisches.

Von dieser bestechend einfachen Methode konnten wir jedoch vorläufig keinen Gebrauch machen, denn sie ergibt mit einigen wassermannpositiven Seren ein negatives Resultat. Die Erklärung dieser Widersprüche bis auf weiteres hinausschiebend, wandten wir zur Verfeinerung der Reaktion, nach Brucks Beispiel, das Verfahren der Zentrifugierung des Gemisches an. Die von uns benutzte elektrische Zentrifuge macht 2500 Touren in der Minute; die Gemische werden 5—6 Min. zentrifugiert und unmittelbar darauf das Resultat der Reaktion beurteilt. Bei negativem Resultat bleibt das Gemisch unverändert; in Gemischen mit chylösen Seren bilden sich in einzelnen Fällen Fäden in der Flüssigkeit oder auf ihrer Oberfläche; bei leichterem Schütteln verschwimmen sie in eine gleichmäßige Trübung. Der positive Ausfall der Reaktion charakterisiert sich durch Bildung an der Oberfläche des Gemisches einer grauweißen Membran, welche ganz oder zerrissen sein kann; dabei mehr oder weniger ausgesprochene Klärung der Flüssigkeit. Beim Schütteln zerfällt die Membran in Flocken. Die Beurteilung der Reaktion geschieht mit unbewaffnetem Auge, besser gegen ein Fenster oder eine künstliche Lichtquelle.

Der Anordnung des Versuchs muß ein Versuch mit bestimmt positivem und negativem Serum vorausgeschickt werden.

Der Ausfall der Reaktion wird nach folgendem Schema notiert: 1) Das Gemisch opalisiert; keine Membran; keine Flocken, Reaktion negativ (—). — 2) Das Gemisch ist vollkommen durchsichtig; eine große Membran, welche nach Schütteln in große, mürbe Flocken zerfällt: Reaktion stark positiv (++++). — 3) Ausgesprochene Klärung des Gemisches; die Membran ist kleiner, die Flocken seltener — Reaktion ausgesprochen positiv (+++). — 4) Geringe Klärung des Gemisches; kleine Membran, kleine Flocken — Reaktion positiv (++). — 5) Keine sichtbare Klärung; schwach ausgesprochene Membran; wenige Flocken — Reaktion schwach positiv (+). — 6) Keine sichtbare Klärung; keine deutliche Membran; scheinbarer feiner Staub — Ausfall unbestimmt (±).

Wird bei schwach positivem Ausfall der Reaktion das Gemisch abermals zentrifugiert, so steigt die Reaktion um 1—2 Grad. Dies hat einen Wert in Fällen mit unbestimmtem, zweifelhaftem Resultat, in welchen nach abermaliger Zentrifugierung eine genaue Beurteilung möglich wird.

In Gemischen mit negativen Seren haben wir niemals Ausflockung, sogar bei wiederholter, 20 Min. anhaltender Zentrifugierung, beobachtet, ebensowenig bei wiederholter Zentrifugierung des Gemisches nach 18—20 Std.

Titration der Emulsion. Alle Autoren betonen die außerordentliche Wichtigkeit einer genauen Bestimmung des Arbeitstiters der Extrakte bei Ausflockungsreaktion; die Grenzen desselben sind viel enger als die des Arbeitstiters bei WaR. Versuche der Anwendung alkoholfreier Lipoidemulsion bei Ausflockungsreaktion überzeugten uns, daß auch hier eine genaue Bestimmung der optimalen Konzentration Grundbedingung der Richtigkeit der Resultate ist.

Das Titrieren der Emulsion wird in 3 Zeiten ausgeführt: 1) mit Gemischen aus positiven und aus negativen Seren werden die Grenzen des Arbeitstiters der Emulsion festgestellt; 2) im Bereich dieser Grenzen wird an einzelnen Seren (stark positiven, schwach positiven und negativen) die optimale Konzentration der Emulsion bestimmt; 3) an einer Reihe positiver und negativer Seren wird die Kontrolle der optimalen Dilution der Emulsion ausgeführt.

In Tabelle I ist ein Schema der Titrierung der Emulsion dargestellt.

Tabelle I.

Anfängliche Verdünnung der Emulsion = 1:2.

No. des Gemisches	1	2	3	4	5	6
Serum	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Physiologische Kochsalzlösung	0,2	0,4	0,5	0,56	0,6	0,63
Emulsion	0,6	0,4	0,3	0,24	0,2	0,17
Erhaltene Verdünnung	1:2	1:3	1:4	1:5	1:6	1:7

Die optimale Konzentration der Emulsion entspricht meistens No. 1 oder 2 oder 3 des Gemisches.

Der Titer der Emulsion kann mit der Zeit nach einer oder der anderen Richtung Abweichungen aufweisen, wie dies auch an Alkoholextrakten beobachtet wird. Daraus folgt die Notwendigkeit perio-

discher Kontrolle des Titers. Durch jedesmalige Anordnung eines Vorversuches wird eine solche Kontrolle unnötig. Der Vorversuch wird auf folgende Weise ausgeführt: das positive Serum wird in 3 Reagenzgläser verteilt und tetrierte Emulsion in Mengen von 0,8—0,6—0,4 zugegossen; die bis 0,8 fehlende Menge wird mit physiol. Kochsalzlösung aufgefüllt. Bei Anordnung des Hauptversuches bewahren wir dasjenige Verhältnis der Emulsion und physiol. Kochsalzlösung, bei welchem die Reaktion maximal ausfiel.

Wir haben unsere Methode an 1184 Seren geprüft, welche gleichzeitig nach WaR. und DM. untersucht wurden.

In Tabelle II sind die Ergebnisse einer jeden dieser Methoden zusammengestellt. Das Resultat der DM. wurde nach 24stünd. Verweilen des Gemisches im Brutschrank vorläufig notiert; zur endgültigen Beurteilung wurde es bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Morgen gelassen, denn Verspätung der Ausflockung ist bei dieser Methode gar nicht selten (Tabelle II).

Tabelle II.

(Unsere Modifikation ist in der Tabelle schematisch mit BLR bezeichnet.) Es sind im ganzen 1184 Seren untersucht. Davon gaben 1119 Seren (94,5 Proz.) nach allen 3 Methoden eindeutige Resultate.

Zahl der eindeutigen Resultate			Zahl der nicht übereinstimmenden Resultate	
WaR = BLR WaR + = BLR + : 256 WaR − = BLR − : 816 1072	WaR + > BLR +	WaR + < BLR +	WaR +, BLR −	WaR −, BLR +
	23	49	23	17
1144 (96.6 Proz.)			40 (3,4 Proz.)	
DM = BLR 1084	DM + > BLR + 21	DM + < BLR + 46	DM +, BLR = 13	DM −, BLR + 20
1151 (97,2 Proz.)			33 (2,8 Proz.)	
WaR = DM 1053	WaR + > < DM + 48	WaR + < > DM + 31	WaR +, DM − 36	WaR −, DM + 16
1132 (95,8 Proz.)			52 (4,2 Proz.)	

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich, stimmen die Resultate unserer Methode mit denen der WaR. in einem nicht geringeren Prozentsatz der Fälle überein (96,6 Proz.), als diejenigen der DM. (95,8 Proz.).

Was den Grad der Spezifizität der Methode anbetrifft, so können wir kein exaktes Urteil darüber abgeben, denn die Arbeit wurde in einem Laboratorium ausgeführt, wo nicht immer die Möglichkeit einer Kontrolle der Resultate der Reaktion durch klinische Angaben gegeben war.

Diese Frage muß auf indirekte Weise gelöst werden und als Maßstab der Spezifizität eine der in dieser Hinsicht geprüften Reaktionen angenommen werden. Von 17 Seren, welche bei unserer Methode positiv und nach WaR. negativ reagierten, gaben 16 auch nach DM. ein positives Resultat. Von 20 Seren, welche nach unserer Methode positiv reagierten bei negativen DM., ergaben 19 eine positive WaR. Sind die WaR.- und DM.-Methoden von geprüfter Spezifizität, so liegt

genügend Grund vor, auch unsere Methode als spezifisch anzuerkennen. In 13 dieser Fälle war die Syphilis auch klinisch festgestellt. Ein Fall stark positiver Reaktion nach unserer Methode bei schwach positiver DM. und negativer WaR. betrifft einen Kranken, dessen Blut 3 Wochen nach Auftreten des Primäraffekts untersucht wurde; später entwickelten sich sekundäre Syphiliserscheinungen. In einem Falle mit positiver Reaktion nach unserer Methode und nach Meinicke bei unbestimmter WaR. hatte die Kranke (ohne Lues in der Krankengeschichte) eine chronische Kniegelenkentzündung, welche tuberkuloseverdächtig war. Es ist dies der einzige Fall, wo eine unspezifische Reaktion nach unserer Methode angenommen werden kann.

Es scheint also die von uns ausgearbeitete Methode in Hinsicht ihrer Sensibilität und Spezifizität der DM. nicht nachzustehen.

Die Anwendung der Reaktion nach unserer Methode steht der Methode von Bruck nahe, welcher das Verfahren der Zentrifugierung (von Gaehtgens für die Agglutinationsreaktion, von Meyer und von Gaehtgens für die Ausflockungsreaktion eingeführt) anwendet.

Im Vergleich mit BR. fordert unsere Methode eine weniger andauernde Zentrifugierung, demonstriert anschaulicher die Abwesenheit der Membran in negativen Gemischen und ermöglicht die Durchführung der Reaktion in isotonischer Kochsalzlösung des Gemisches, d. h. in den Bedingungen biologischer Reaktionen. — Der Umstand, daß bei unserer Methode die Flocken der positiven Gemische an der Flüssigkeitsoberfläche schwimmen, während bei der BR. die Bildung der Membran an der Oberfläche des Gemisches eine starke Steigerung der Konzentration der Salzlösung erfordert, zeugt von einer qualitativ verschiedenen physikalischen Struktur der Flocken, welche bei jeder dieser Reaktionen ausfallen. Dieser Unterschied kann nicht durch die bloße Anwesenheit in Brucks Extrakten der durch Aether extrahierbaren Fette erklärt werden, denn auch bei der DM. sinken die Flocken zu Boden. Es muß angenommen werden, daß der Alkohol an und für sich einen Einfluß auf die physikalische Struktur der bei den Ausflockungsreaktionen ausfallenden Flocken ausübt.

Folgende Versuche stellen den Einfluß des Alkohols auf den Verlauf der Ausflockungsreaktion fest, im Sinne der Abnahme der Sensibilität der Reaktion, sowie im Sinne der Veränderung des physikalischen Charakters der Flocken: I. Zum Gemische aus positivem Serum und Emulsion wurde Alkohol zugesetzt, in einer Menge, welche in einer der Emulsion entsprechenden Extraktmenge enthalten ist; nach gewöhnlicher Zentrifugierung fiel in einem solchen Gemisch — statt der Membranbildung — ein Niederschlag als feiner, in der ganzen Flüssigkeit verteilter Staub aus. — II. Das Extrakt wurde mit physiologischer Salzlösung in derselben Proportion, wie dies mit der Emulsion geschieht, versetzt. Der Charakter der Suspension variiert dabei je nach der Weise der Mischung: wird das Extrakt zu der physiol. Kochsalzlösung zugegossen, so bildet sich eine leicht opalisierende Flüssigkeit; bei umgekehrtem Verfahren wird eine stark trübe Suspension gebildet. Mit beiden Suspensionen werden ganz unbestimmte Resultate erzielt: erstere gibt mit positiven Seren gar keine Ausflockung; die zweite — nur nach 10—15 Min. langer Zentrifugierung, jedoch nicht als Membran, sondern in Form eines kompakten Niederschlags auf dem Boden des Reagenzglases; dies nicht nur mit positiven, sondern auch mit negativen Seren.

Unsere Versuche der Anwendung alkoholfreier Lipoidemulsion bei den Reaktionen mit Zerebrospinalflüssigkeit sind noch nicht beendet.

Anmerkung zur Korrektur. Zurzeit verfügen wir über ein Material von 1670 Untersuchungen. Wir erhielten bei der Anstellung weiterer Versuche gleichwertige Erfolge.

Nachdruck verboten.

Ueber die Brucksche Syphilisreaktion.

[Aus dem Bakteriologischen Institut zu Smolensk.]

Von **M. Isabolinsky** und **W. Gitowitsch.**

Schon bald nach den Veröffentlichungen von Wassermann und seinen Mitarbeitern über die Serodiagnostik der Syphilis konnte man eine ganze Reihe von wissenschaftlich begründeten Bestrebungen beobachten, die Technik der Serodiagnose zu vereinfachen, um sie breiten Aerztekreisen zugänglich zu machen.

Da die strenge Spezifität der Komplementbindungsreaktion bei Syphilis in Zweifel gestellt worden ist, so ist es klar, daß diese Reaktion bei Syphilis ganz anders verläuft als bei anderen Infektionskrankheiten, und daß von einem Zusammenwirken von Antigen und Antikörper im eigentlichen Sinne hier keine Rede sein kann.

Die ursprüngliche theoretische Vorstellung über die Spezifität der Komplementbindungsreaktion bei Syphilis wurde durch ganz unerwartete Umstände erschüttert. Diese Tatsache hat Anstoß zum gründlichen Studium des „Antikörpers", der als spezifischer Träger der Reaktion erscheint, gegeben.

Auf Grund einer ganzen Reihe von experimentellen Untersuchungen sind die Forscher zu dem Schlusse gekommen, daß die Wassermann-Reaktion bei Syphilis durch das Zusammenwirken von 2 Eiweißsubstanzen kolloidaler Natur bedingt wird, und daß dieses Zusammenwirken als Ausflockungs- resp. Präzipitationsreaktion in Erscheinung tritt.

Die neuesten Fortschritte auf dem Gebiete der Kolloidchemie, besonders in der Dispersitätslehre, steigerten das Interesse zahlreicher Forscher für die Ausflockungsreaktionen bei der Syphilisdiagnostik.

Jakobsthal hat zuerst die sog. optische Methode bei der Syphilisdiagnostik angewendet; es gelang ihm, mit Hilfe des Ultramikroskops in einem Gemisch von Syphilisserum und Extrakt schuppenartige Flockenbildungen zu beobachten. Bruck und Hidaka haben gezeigt, daß man die Präzipitationsreaktion auch makroskopisch beobachten kann, wenn man 0,2 ccm des Serums in Kochsalzlösung mit einer bestimmten Menge des Extraktes zusammenmischt, das Gemisch während 24 Std. bei 2°—4° stehen läßt und alsdann in einer elektrischen Zentrifuge zentrifugiert. Bei Aufschütteln des Zentrifugates weisen die syphlitischen Sera eine recht gut makroskopisch sichtbare Ausflockung auf, die nicht syphilitischen Sera dagegen nur eine gleichmäßige Trübung. Weiterhin verbesserte Bruck die Technick seiner Reaktion dadurch, daß er anstatt physiologischer Kochsalzlösung eine 10proz. Kochsalzlösung benutzte, um unspezifische Niederschläge zu vermeiden. Die Zubereitung der Extrakte aus den Herzmuskeln erfolgt in der Weise, daß der Herzmuskel von Menschen, Ochsen und Pferden sehr sorgfältig gereinigt und gewaschen, dann durch eine Fleischhackmaschine zerkleinert und nachher in einem Porzellanmörser zerrieben wird. Auf 1 Teil des Herzmuskels nimmt man 5 Teile 96proz. Alkohol und läßt das Gemisch in einem gut verkorkten Gefäße 2 Wochen lang stehen; von Zeit zu Zeit wird das Gemisch recht gut aufgeschüttelt. Nach 2 Wochen wird das Gemisch filtriert. Aus dem auf diese Weise gewonnenen Rohextrakt werden die notwendigen Verdünnungen in physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1 : 1 hergestellt. Die Kochsalzlösung wird in zwei Raten hinzugefügt: die erste Hälfte des NaCl wird langsam bei ständigem Aufschütteln des Extraktes je 0,5 ccm

alle 3—5 Sekunden hinzugefügt; die zweite Hälfte wird auf einmal zugegossen. sodann das ganze Gemisch aufgeschüttelt. Die so vorbereitete Verdünnung stellt eine gleichmäßig trübe Lösung dar; wenn beim Stehen sich die Trübung auf den Boden senkt, soll die Lösung vor der Benutzung aufgeschüttelt werden. Zum Versuch werden 0,3 ccm des verdünnten Extraktes, 0,2 ccm des aktiven oder inaktivierten Untersuchungsserums und 0,8 ccm einer 10proz. NaCl-Lösung angewendet; das Gemisch wird in einer elektrischen Zentrifuge während 20 Minuten zentrifugiert. Um unspezifische Ausflockungen zu vermeiden, soll die Extraktverdünnung immer frisch vorbereitet werden. Mittelst seiner Reaktion untersuchte Bruck 1500 Sera und fand in 98,6 Proz. völlige Uebereinstimmung mit der Wassermann-Reaktion. Die Vorzüge seiner Reaktion sieht er darin, daß man mit einer konstanten Extraktdosis arbeitet, daß zur Ausführung der Reaktion kein Thermostat und Agglutinoskop gebraucht wird, und daß schließlich die ganze Reaktion während einer halben Stunde ausgeführt werden kann.

Wir besitzen bis jetzt noch sehr spärliche Literaturangaben über die Brucksche Reaktion trotz ihrer Einfachheit. Zeißler untersuchte 1031 Sera nach Wassermann und Bruck und fand Uebereinstimmung beider Reaktionen in 94 Proz. Er zieht diese Reaktion allen anderen Methoden vor und bezeichnet sie als beste Ergänzung der Wassermann-Reaktion. Auf Grund von 150 Untersuchungen fand Teichmann in 84 Proz. Uebereinstimmung der Wassermann- und Bruck-Reaktion. Seinen Beobachtungen nach ist die Sicherheit der Reaktion so groß, daß man sie als eine rasche Reaktion gleichzeitig mit der Wassermannschen ausführen kann. Er beobachtete keine unspezifischen Ausflockungen. Gruetz untersuchte 2000 Sera gleichzeitig nach Wassermann, Sachs-Georgi und Bruck und fand in 87,3 Proz. ein völliges Uebereinstimmen dieser drei Reaktionen. Auf Grund ihrer 2000 Untersuchungen stellte Al. Kreßler ein völliges Zusammentreffen der Wassermann- und Bruck-Reaktionen in 93,1 Proz. fest, sie stellt diese Reaktionen den anderen Ausflockungsreaktionen, wie Meinicke und Sachs-Georgi, als gleichwertig an die Seite und erkennt sie als hochspezifisch an. Aus der russischen Literatur ist eine Arbeit von Neszadimenko und Barg bekannt; sie untersuchten 204 Sera nach Wassermann und Bruck und fanden in 80,3 Proz. ein völliges Zusammentreffen beider Reaktionen. Bei latenter Lues waren divergente Resultate der Reaktionen häufiger. Nach Meinung dieser Autoren erweckt das positive Resultat der Bruck-Reaktion keinen Zweifel, da sie keine unspezifische Niederschläge gibt; sie schlagen daher vor, diese Reaktion in kleinen, mit ungenügender Einrichtung versehenen Laboratorien, anzuwenden.

Unser Material umfaßt 250 Sera, darunter 46 von Tuberkulose nach Besredka untersuchte Sera. Der Extrakt wurde genau nach Brucks Anweisungen hergestellt und nach vorherigen Kontrolluntersuchungen mit Normal- und syphilitischen Seren angewendet.

Das Resultat der Untersuchung von 204 Sera nach Bruck und Wassermann ist folgendes:

Wa. — Br. ∓	18 Fälle	Wa. — Br. —	112 Fälle
Wa. ∓ Br. —	3 „	Wa. + Br. +	18 „
Wa. + Br. —	28 „	Wa. ∓ Br. +	6 „
Wa. — Br. +	9 „	Wa. + Br. ∓	10 „

Ein völliges Uebereinstimmen beider Reaktionen beobachten wir in 130 Fällen, d. h. in 65 Proz. 28 Sera, die von ungenügend behandelten Kranken stammten, gaben positive Resultate nach Wassermann und negative nach Bruck. In 9 Fällen von Tuberkulose, Abszessen und Geschwülsten fanden wir ein positives Resultat nach Bruck und ein negatives nach Wassermann. Bei 46 nach Besredka untersuchten tuberkulösen Seris beobachteten wir in 15 Fällen (32 Proz.) nach Bruck ein positives Resultat. Analoge Beobachtungen wurden von uns auch bei der S.-G.-Reaktion gemacht, bei welcher wir positive Resultate auch bei anderen Krankheiten (Tuberkulose) erhielten.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Bruck-Reaktion

für Syphilis nicht spezifisch ist, da sie auch bei anderen Krankheiten, wie Tuberkulose, Abszessen und Furunkulose, positiv ausfällt. Diese Reaktion ist wie andere Ausflockungsreaktionen verschiedenen Gruppenkrankheiten eigentümlich; bei ganz gesunden Menschen fällt sie negativ aus. Da für die Ausführung der Bruck-Reaktion sehr viel elektrische Energie zum Zentrifugieren jeder einzelnen Untersuchung verbraucht wird, so ist sie auch praktisch zur Serodiagnostik der Syphilis sehr wenig geeignet; sie kann die Wassermann-Reaktion nicht ersetzen.

Nachdruck verboten.

„Herpetischer Zoster"? Kerneinschluss oder Kerndegeneration?

Von Privatdozent Dr. **B. Lipschütz**, Wien.

Im Centralblatt für Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 91 teilen Luger und Lauda die Untersuchungsergebnisse eines „prinzipiell wichtigen" Falles mit, den sie als Herpes zoster ansprechen.

Es handelt sich um eine 45 Jahre alte Frau, bei der am 22. Tage nach der Spitalaufnahme „in der rechten Glutäalgegend an zwei Stellen Herpes zoster-Bläschen in Gruppen auftraten". Bei Verimpfung des Bläscheninhaltes gelang es, eine schwere dentritische Keratitis mit eitriger Conjunctivitis zu erzielen, die sich in drei weiteren Kaninchenpassagen fortführen ließ. Bei einem der korneal geimpften Tiere entwickelten sich nach 10 Tagen schwere nervöse Erscheinungen, denen das Tier erlag. Ein mit dem Gehirn subdural infiziertes Tier ging nach 5 Tagen ebenfalls mit positivem histologischem Befund am Zentralnervensystem ein.

Das experimentelle und histologische Versuchsergebnis entspricht zweifellos den vom Herpes simplex her bekannten Erscheinungen, und auch durch den gekreuzten Immunitätsversuch erscheint schließlich die Identität des von den Autoren im Bläscheninhalt der Kranken nachgewiesenen Virus mit dem Herpes simplex-Virus einwandfrei erwiesen.

Soweit wäre die zitierte Beobachtung keinerlei Kritik zugänglich und auch sicherlich nicht einer ausführlichen Veröffentlichung wert. Das Besondere der Mitteilung liegt aber darin, daß die Autoren ihren Fall als Herpes zoster ansprechen und daher von einem gelungenen Nachweis des Herpes simplex-Virus in der Zosterblase sprechen.

Diese Annahme erscheint mir aber keinesfalls berechtigt und ihre Abwehr um so mehr geboten, als ihre Mitteilung in einer nicht dermatologischen Zeitschrift dazu führen könnte, ihren Uebergang in die parasitologische Literatur zu vermitteln und geeignet wäre, die Klärung der Aetiologie des Herpes zoster zu erschweren.

Jedem dermatologisch geschulten Arzt sind die diagnostischen Schwierigkeiten bei der Lokalisation vereinzelter Gruppen von Herpesbläschen in bestimmten Körperpartien, wie z. B. in der Glutäalgegend oder an der Gesichtshaut, von jeher bekannt. Auf Grund exakter klinischer Beobachtungen haben daher erfahrene Autoren — sowohl Dermatologen als Neurologen — stets zwischen echtem Herpes zoster und sogenanntem zosteriformen Herpes unter-

schieden. Ersterer zeigt das typische, schon vom Laien als Gürtelrose anzusprechende Hautbild, geht in der Regel nicht nur mit Fieber, sondern mit mehr oder weniger ausgesprochenen Allgemeinerscheinungen einher, heilt mit Hinterlassung von Narben ab und verleiht Immunität. Nach den Angaben der französischen Schule sind Rezidive nach Herpes zoster seltener als solche nach Masern.

Der „zosteriforme Herpes" wiederum zeigt nie das ausgesprochene klinische Bild des echten Herpes zoster, setzt sich somit nur aus sehr spärlichen Herpesgruppen zusammen, bedingt nur geringe Störung des Allgemeinbefindens, setzt keine Narben und kann rezidieren. Er stellt einen echten Herpes febrilis oder Herpes genitalis mit Lokalisation an der Gesichtshaut bzw. Genitale oder paragenital in der Glutäalgegend usw. dar.

In dem von den Autoren zur Untersuchung herangezogenen Fall finde ich die Diagnose: Herpes zoster vollkommen unbegründet. Die klinischen Symptome und die Ergebnisse der experimentellen und immunologischen Untersuchungen führen vielmehr mit einer an Sicherheit grenzenden Wahrscheinlichkeit zur Annahme eines „zosteriformen Herpes". Alle weitläufigen Ausführungen der Autoren über die Existenz eines „herpetischen Zoster", d. h. über das Vorkommen eines echten Herpesvirus in einer Zosterblase, sind daher nicht haltbar. Fühlt man sich schon veranlaßt, aus dem Studium eines einzigen „prinzipiell wichtigen" Falles sich zu weitgehenden theoretischen Auseinandersetzungen verleiten zu lassen, so muß man die selbstverständliche Forderung erfüllen, zum Ausgangspunkt der Untersuchungen einen in klinisch-diagnostischer Hinsicht über jeden Zweifel erhabenen Fall zu wählen. Somit liegt meines Erachtens bisher auch kein Grund vor, eine besondere Form eines „herpetischen Zosters" anzunehmen. (Uebrigens sei hier auch an einen Versuch Marianis erinnert, der nach positiver Impfung einer Kaninchencornea mit Material von Herpes zoster eine Immunität gegenüber einer nachträglichen Impfung mit Herpes febrilis-Virus feststellen konnte.) Will man aber eine ätiologische Vielheit des Herpes zoster annehmen, so begibt man sich — auf Grund der bisherigen, noch sehr lückenhaften Kenntnisse — wiederum auf den Boden rein spekulativer Annahmen, deren wissenschaftlicher Wert sehr problematisch erscheinen muß. Das Zosterproblem ist zweifellos komplizierter, als man für gewöhnlich anzunehmen geneigt ist; um so mehr erscheint strenge Kritik geboten, um uns vor weitgehenden theoretischen Annahmen und hypothetischen Deutungen zu hüten.

Während die der Mitteilung von Luger und Lauda zugrunde liegende Beobachtung überhaupt keinem Fall von Herpes zoster entspricht und für die Annahme eines „herpetischen Zoster" auch gar kein Beweis erbracht erscheint, sind in der letzten Zeit sehr beachtenswerte Arbeiten von Teague und Goodpasture über „experimentellen Herpes zoster" erschienen, die sowohl wegen ihrer exakten Arbeitstechnik als auch der Prägnanz der erzeugten Krankheitsbilder ein genaues Eingehen auf die Deutung der mitgeteilten Tatsachen erheischen.

Bei Impfung der in bestimmter Weise (durch Teerpinselung) vorbereiteten Haut von Meerschweinchen und Kaninchen mit dem Virus des Herpes febrilis konnten Teague und Goodpasture das Auftreten einer streng halbseitig begrenzten, dem Nervenverlauf entsprechenden, bläschenförmigen Hauteruption beobachten, die klinisch einem Herpes zoster ähnelte („a zoster-like eruption"). Mit dem Bläscheninhalt gelang es, beim Kaninchen typische Keratoconjunctivitis mit

den spezifischen Kerneinschlüssen („Herpeskörperchen") zu erzeugen. Aber auch in den dem Innervationsgebiet der mit positivem Erfolge geimpften Haut entsprechenden Spinalganglien konnte das Herpesvirus nachgewiesen werden. In einzelnen Fällen griff die Infektion auf das Rückenmark über und führte zum Auftreten einer einseitigen Myelitis.

In weiteren Mitteilungen heben die amerikanischen Forscher die bedeutenden Unterschiede in klinischer und experimenteller Hinsicht zwischen Herpes zoster und Herpes febrilis hervor und weisen mit Recht darauf hin, daß es Grenzfälle gibt, in denen die Unterscheidung zwischen beiden Krankheiten sich sehr schwer oder fast unmöglich vornehmen läßt. Mit Bläscheninhalt eines derartigen an der Stirnhaut oberhalb des rechten Auges sitzenden, dem Ausdehnungsgebiet des N. supraorbitalis entsprechenden Grenzfalles von Herpes konnten die Autoren wiederum eine bläschenförmige Hautaffektion beim Tier hervorrufen. Nach kornealer Passage des Virus gelang es, auf der mit Teer präparierten Haut eines Versuchstieres eine ausgesprochene herpetische, zosterähnliche Eruption zu beobachten.

Aus den exakten Untersuchungen dieser Forscher müssen wir — in Uebereinstimmung mit den in den Schlußfolgerungen ihrer Arbeit gemachten Angaben — entnehmen, daß es gelingt: 1) mit Herpes febrilis-Virus eine klinisch und pathologisch dem menschlichen Herpes zoster ähnlich sehende experimentelle Hauterkrankung beim Kaninchen und Meerschweinchen hervorzurufen und 2) daß gewisse zosteriforme Herpesfälle des Menschen ein für die Versuchstiere pathogenes Virus enthalten, das bei letzteren eine unter dem Bilde eines Herpes zoster verlaufende Erkrankung herbeiführt.

Teague und Goodpasture glauben annehmen zu können, daß zwischen dem Virus des menschlichen Herpes zoster und dem des Herpes febrilis nur Virulenzunterschiede bestehen dürften, bzw. daß beide zueinander innige Beziehungen aufweisen.

So bestechend im ersten Augenblick die von den Autoren vorgenommene Deutung ihrer bemerkenswerten Versuchsergebnisse ist, um so schärfer muß auch — zumindest auf Grund aller bisherigen Kenntnisse — eine nüchterne Kritik die beobachteten Tatsachen beleuchten. Gerade die lehrreiche Arbeit der amerikanischen Forscher zeigt, daß Fälle, die wir klinisch nicht als Herpes zoster, sondern als „zosteriformen Herpes" von jeher zu deuten gewohnt waren, sich im Experiment geeignet erwiesen haben. Ein echter Herpes zoster des Menschen wurde auch von Teague und Goodpasture nicht zu den tierexperimentellen Untersuchungen herangezogen. Die beim Versuchstier aufgetretene Hautveränderung kann zwanglos auch als Herpes der Haut oder als „zosteriformer Herpes" gedeutet werden, und selbst die Lokalisation des Virus in den Spinalganglien spricht nicht gegen diese Annahme, nachdem, wie die amerikanischen Autoren selbst ausführen, W. T. Howard eine Erkrankung des Ganglion Gasseri bei echtem Herpes febrilis festgestellt hat. Daß aber echter Herpes zoster des Menschen auf die Kaninchencornea impfbar sein kann, habe ich selbst als erster 1920 nachgewiesen, und meine Aufgaben sind inzwischen, wie ich in einer vor kurzem in der „Wien. klin. Woch. 1924 erschienenen Arbeit ausführen konnte, auch von anderen Autoren (Marinescu und Draganescu, Mariani usw.) bestätigt worden. Ebenso ist es schon längst bekannt, und Unna hat zielbewußt darauf aufmerksam gemacht, daß Herpes zoster und Herpes febrilis einander biologisch sehr nahe stehen, wofür auch die von mir nachgewiesenen zytologischen Befunde („Herpes"- und „Zosterkörperchen") sprechen würden.

Haben wir aber deshalb Gründe, beide Vira miteinander zu identifizieren, bzw. bloß Virulenzunterschiede bei beiden Krankheitserregern anzunehmen? Gerade die Herpesforschung hat bewiesen, daß pathologischer Ablauf des Krankheitsprozesses und Immunitätsvorgänge beim Menschen und beim Tier nach mehrfachen Richtungen hin voneinander abweichen. Man vergleiche bloß das harmlose Fieberbläschen des Menschen mit der tödlichen Encephalitis herpetica des Kaninchens! Auch die Immunität als Ausdruck des „biologischen Geschehens" beim Herpeszoster des Menschen ist den Immunitätsverhältnissen beim Herpes febrilis des Menschen diametral entgegengesetzt. Geht man kritisch an die biologische Erforschung menschlicher Infektionskrankheiten heran und berücksichtigt man nicht allein die außerordentlich wertvollen Ergebnisse der Laboratoriumsuntersuchungen, sondern in allererster Linie die nicht wegzuleugnenden exakten Beobachtungstatsachen der Klinik, so wird man auch aus den sehr bemerkenswerten Mitteilungen von Teague und Goodpasture keinen zwingenden Beweis entnehmen können für die Annahme eines „experimentellen Herpes zoster" des Versuchstieres. Wie ein derartiger Beweis zu führen wäre, ist oben bereits mehrfach angedeutet worden; nicht Grenzfälle, sondern ausschließlich über jeden Zweifel erhabene klinische Formen des Herpes zoster dürfen als Ausgangspunkt der Untersuchungen über die Aetiologie dieser Krankheit herangezogen werden.

Luger und Lauda, die bestrebt sind, die von mir beim Studium der Herpeskrankheiten eingeführten Bezeichnungen „Zoster" und „Herpeskörperchen" für die eigenartigen, früher unbekannt gewesenen, gesetzmäßig in den Kernen der Epithel- und Bindegewebszellen der menschlichen Hauteffloreszenzen und gewisser pathologischer Gewebeveränderungen des Tieres auftretenden Gebilde zu vermeiden, erklären letztere als degenerative Veränderung des Kernes. Da sie aber auf Grund ihrer bereits mehrjährigen Untersuchungen und zum Teil auch Ueberprüfungen meiner Arbeiten (über Herpes zoster und Herpes genitalis) diese „Degeneration" konstant wiederfinden, sie sogar nicht allein in den Kernen der Epithelzellen der Kaninchencornea bei der Keratitis herpetica des Menschen und des Kaninchens, sondern auch — gleichzeitig mit Goodpasture und Teague — in den Kernen der Ganglien- und Gliazellen bei der experimentellen Encephalitis herpetica nachweisen können und sie ebenso regelmäßig in Kontrollversuchen vermissen, können sie nicht umhin, sie als charakteristisch für den Infektionsprozeß zu bezeichnen. Die Kernveränderung sprechen sie als „Chromatolyse" im Sinne von Heidenhain an.

Ich habe schon anläßlich mehrfacher Aussprachen in Wiener medizinischen Gesellschaften gegen diese Deutung der „Zoster-" und „Herpeskörperchen" Stellung genommen, und wenn ich nochmals hier auf diese Frage eingehe, so geschieht es, um den Lesern dieses weit verbreiteten Centralblattes meine Ansichten über die Natur der erwähnten Gebilde in Kürze zu begründen.

Zunächst sei vorweggenommen, daß der Begriff „Chromatolyse" seit Flemming und Heidenhain bis Hansemann sehr verschiedene Deutungen erfahren hat. Nach Heidenhain, den die Autoren immer wieder zitieren, entspricht die „Chromatolyse" einem rein kerntinktoriellen Vorgang, und Heidenhain fügt (Plasma und Zelle S. 144) ausdrücklich hinzu, daß die von ihm gegebenen Bilder (z. B. Fig. 49) für die Kernmorphologie unverbindlich seien.

Unna, wohl einer der besten Kenner der Epithelzelle, der sich überdies, wie bekannt, in ausgezeichneten Untersuchungen mit der Histologie der Krankheiten der Herpesgruppe beschäftigt und die Gewebsbilder in seinem Atlas genauestens wiedergegeben hat, lehnt (nach einer persönlichen Mitteilung) die „Chromatolyse" für das Auftreten der „Zoster-" und „Herpeskörperchen" ab und hat mir (Hamburger Dermatologenkongreß 1921) außerdem erklärt, daß die Gebilde ihm von früher her unbekannt und daher durchaus neu seien.

Auch Marinescu, dem große Erfahrungen auf dem Gebiete der Histologie des Zentralnervensystems zu Gebote stehen, lehnt die „Chromatolyse" ab, und Goodpasture und Teague, die, wie bereits erwähnt (unabhängig von Luger und Lauda) die „Herpeskörperchen" in den Kernen der Ganglien- und Gliazellen bei der Encephalitis herpetica des Kaninchens beschrieben haben, deuten ebenfalls die Gebilde in meinem Sinne als „Einschlüsse". Auf Grund ausgedehnter und exakter Untersuchungen kommen die amerikanischen Forscher zu folgenden Ergebnissen: „The presence of intranuclear inclusions-bodies is a characteristical cellular change having, in our opinion, no analogy in the various types of purely degenerative nuclear alterations with wich we are familiar", und „... we feel convinced that the intranuclear inclusions are an expression of the immediate presence, within the affected nuclei, of the virus of herpes febrilis and that a lesion wich does not contain them cannot from a histological standpoint alone definitely be attribued to this virus, while their presence in prima facie evidence of the local presence of this or a similiar virus."

Die „Zoster-" und „Herpeskörperchen" sind vor allem auch nativ, bzw. bei intravitaler Färbung nachzuweisen, und selbst wenn sie beträchtliche Größe erreichen und den Kernraum nahezu ganz ausfüllen, weisen sie noch immer eine scharfe Begrenzung auf und lassen in der Regel nach zwischen sich und der Kernmembran einen äußerst schmalen Spaltraum erkennen. Es ist zunächst klar, daß es sich bei ihnen keinesfalls etwa um Fixations- oder Schrumpfungsprodukte handeln kann.

Wenn ich schon in meinen ersten Arbeiten die „Zoster-" und „Herpeskörperchen" als „Zelleinschlüsse" im Sinne der Chlamydozoenlehre gedeutet habe, so wurde mit dieser Bezeichnung sicherlich nicht etwa irgendein mystischer Begriff verbunden, sondern ich ging, auf Grund vieljähriger Erfahrungen und genauer Ueberlegungen, gestützt auf vergleichende mikroskopische und experimentelle Untersuchungen, von dem von mir aufgestellten System der Chlamydozoenkrankheiten aus (2. Mitteilung: Wien. klin. Woch. 1919), bei dem je nach dem Sitz und dem Verhalten der Gebilde zu den einzelnen Zellbestandteilen drei Gruppen: die Cytooikon-, Karyooikon- und die Cytokaryooikongruppe unterschieden werden konnten.

Beschränken wir uns hier zunächst auf die Karyooikongruppe, zu der ich neben anderen Infektionskrankheiten die Erkrankungen der Herpesgruppe gerechnet habe, so weisen die Ergebnisse der Passageversuche auf der Kaninchencornea, auch mit zellfreiem Filtrat (z. B. bei Herpes febrilis, wie Blauc und Caminopetros und Luger und Lauda selbst festgestellt haben), darauf hin, daß das Virus gesetzmäßig Veränderungen im Zellkern auslöst, derart, daß man zweifellos nicht fehlgeht, von einem nucleotropen Virus zu sprechen.

Bei den bekannten Beziehungen zwischen „filtrierbaren Infektionserregern“ (Lyssa, Variola usw.) und Zelleinschlußbildung war es daher durchaus gestattet, die in 100 Proz. der Fälle (z. B. auch in meinen Kornealversuchen und Menschenversuchen mit Herpes genitalis usw.) nachzuweisenden eigenartigen Kerngebilde als „Einschlüsse“ im Sinne der Chlamydozoenlehre zu deuten. Natürlich wäre es erwünscht gewesen, entsprechend der von v. Prowazek und mir aufgestellten Lehre, den Aufbau des Kerneinschlußgebildes aus „Elementarkörperchen“ oder Strongyloplasmen (analog den Bildern beim Molluscum contagiosum — Lipschütz, bei der Geflügelpocke — da Rocha-Lima oder bei den Guarnierischen Körpern — Hesse usw.) nachzuweisen. Wie es scheint, spielen hier noch technische Schwierigkeiten eine Rolle. Indessen konnte ich in einzelnen Präparaten von Herpes zoster auch diesen Nachweis in Heidenhain-Präparaten erbringen, und Lauda selbst hat ebenfalls andeutungsweise einen Aufbau der Gebilde (in den Kernen der Ganglien- und Gliazellen) aus kleineren Granula feststellen können, die er jedoch auf Grund einer Reihe zytologischer Untersuchungen nicht als Elementarkörperchen anspricht.

Nun handelt es sich aber bei der Entscheidung der Frage: „Kerneinschluß oder Kerndegeneration“ überhaupt nicht um eine Beweisführung etwa im Sinne der exakten Lösung eines mathematischen Problems, sondern wir sind, wie überhaupt beim Studium naturwissenschaftlicher Fragen, so auch hier genötigt, uns mit Indizienbeweisen zu begnügen. Dabei erachte ich es natürlich keinesfalls für angängig, irgend ein Merkmal der fraglichen Gebilde willkürlich herauszugreifen und auf Grund gewisser, mehr oder weniger weitgehender Aehnlichkeiten mit aus der allgemeinen Zytologie etwa bekannten Befunden sich zu Deutungen und Schlußfolgerungen verleiten zu lassen. Angenommen, aber nicht zugegeben, daß es sich um einen degenerativen Kernprozeß handeln könnte, müßte man für die von mir beschriebenen „Paravakzinekörper“ (Arch. f. Derm. Bd. 127. 1920. Abb. 12, Taf. III), die gleichzeitig im Protoplasma und im Kern derselben Zelle nachzuweisen sind und einander zum Verwechseln ähnlich sehen, für die protoplasmatischen Gebilde ebenfalls einen degenerativen Vorgang annehmen (der natürlich nicht mehr als „Chromatolyse“ zu berechnen wäre), obwohl es mir einwandfrei und mühelos gelungen ist, bei der Verarbeitung dieser einschlußführenden Zellen Strongyloplasmen in ganz enormen Mengen aufzufinden. Auch aus diesem Beispiel kann man ersehen, wie die Nichtberücksichtigung einer von mir beim Studium der „Einschlußkrankheiten“ immer wieder aufgestellten Forderung — systematische Durcharbeitung der ganzen Frage der „Einschlußkrankheiten“ und vor allem Ausführung vergleichender Untersuchungen — zu unrichtigen Annahmen führen kann, die sich übrigens auch in der ersten Periode der Erforschung der Guarnierischen Körper durch Deutung dieser Gebilde als Degenerationsprodukte u. dgl. für den Fortschritt hemmend erwiesen haben.

Den Einschlußbegriff leite ich somit nicht allein aus dem morphologischen oder färberischen oder dem sonstigen Verhalten der Gebilde ab. Zieht man sämtliche in diesen Ausführungen erwähnten Momente heran, berücksichtigt man die Konstanz der Befunde und die Möglichkeit ihrer experimentellen Erzeugung in Passagen beim Menschen und beim Tier[1]), auch mit zellfreien Filtraten, und zieht man für die Be-

1) Goodpasture und Teague konnten in ausgedehnten und lehrreichen Versuchen den Nachweis erbringen, daß die Insertion bzw. die Lokalisation des

urteilung sämtliche Phasen des Ablaufes des in der Zelle sich abspielenden biologischen Vorganges auch unter Beachtung der zeitlichen Faktoren heran, so gelangt man bei Beachtung der oben formulierten methodologischen Forderung doch zu wesentlich anderen Anschauungen, als sie von Autoren, die ihre Untersuchungen an einem eng begrenzten Bruchteil der Chlamydozoenforschung ausgeführt haben, vertreten werden. Die Autoren von ihren Anschauungen abzubringen, ist natürlich nicht der Zweck dieser Zeilen; was ich hier erreichen wollte, war nur, in möglichst knapper Darstellung und mit Vermeidung des Anführens der bereits stark angewachsenen Literatur (so sind in jüngster Zeit von ihren amerikanischen Entdeckern als „Zelleinschlüsse" gedeutete Gebilde auch bei durch filtrierbare Infektionserreger hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten beschrieben worden), meinen Standpunkt objektiv zu vertreten, wobei ich mich der allseits stets anerkannten Schwierigkeit der Erforschung der hier berührten Fragen keineswegs verschließe.

Am Schlusse dieser Ausführungen möchte ich auf eine Reihe ungenauer Angaben aufmerksam machen, die sich in einzelnen Arbeiten von Luger und Lauda vorfinden.

Weder Unna noch Kopytowski haben bei den Krankheiten der Herpesgruppe die von mir zuerst beschriebenen „Kerneinschlüsse" beobachtet, wenn ihnen auch, was in meinen sämtlichen Arbeiten klar zum Ausdruck gebracht wurde, Veränderungen der Zellkerne nicht entgangen sind. Da sie sich aber keiner für zytologische Zwecke geeigneten Methoden bedient haben, ist ihnen der Nachweis der Gebilde entgangen. In meinen Untersuchungen wurden aber nicht nur die charakteristischen Zellkernbefunde in menschlichen Hauteffloreszenzen erbracht. sondern — was einen sehr wichtigen Punkt darstellt — es war mir als erstem gelungen, in der mit Material von Herpes zoster mit klinisch positivem Erfolg geimpften Kaninchenhornhaut die gleichen Kerneinschlüsse, in großer Zahl und beschränkt auf das erkrankte Gebiet der Hornhaut, festzustellen, ohne weitere Passagen vorzunehmen und desgleichen die „Herpeskörperchen" in einer Reihe von Hornhautpassagen bei Untersuchungen mit dem Virus des Herpes genitalis nachzuweisen. Meine Untersuchungen, über die ich in 2 Vorträgen in der Wiener Dermatologischen Gesellschaft berichtet habe, waren auch schon weit vorgeschritten, als Luger und Lauda, die erst anläßlich einer Demonstration meiner Befunde im Wiedener Krankenhaus Kenntnis von meiner Arbeitsrichtung und meiner Arbeitstechnik erlangten und nun ihrerseits, gleichzeitig mit mir, ihre Befunde bei Herpes febrilis erheben konnten. Es ist klar, daß erst die mit Hilfe experimenteller Untersuchungen nachgewiesenen mikroskopischen Befunde eine bedeutende Stütze und besondere Förderung der Zytologie der Herpeskrankheiten erbracht hatten, wie dies auch aus den Arbeiten von Marinescu und Draganescu sowie von Goodpasture und Teague hervorgeht. Es ist daher auch durchaus unrichtig, die histologischen Arbeiten Unnas und Kopytowskis mit meinen auf das Studium der Zellveränderungen eingestellten mikroskopischen und experimentellen Untersuchungen zusammenzuwerfen.

herpetischen Virus nicht allein in der Cornea, sondern in zahlreichen anderen Organen und Geweben das Auftreten typischer intranukleärer „Herpeskörperchen" zur Folge hat, so in der Conjunctiva, Retina, Mundschleimhaut, am Lippenrot, in der Haut, Trachea, Leber, Ovarium, Testikel, Gehirn und Rückenmark.

Es ist aber auch weiterhin unrichtig, daß „Lipschütz als erter den Gedanken hatte, Herpes zoster auf die Kaninchencornea zu übertragen“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. S. 209). Vor mir hatten schon Baum, Kraupa und Salmann derartige Versuche mit negativem Ergebnis vorgenommen. Mir war es hingegen als erstem geglückt, durch Auswahl besonders junger Zosterfälle eine klinisch einwandfreie Keratis beim Kaninchen zu erzielen, in der „Zosterkörperchen“ in großer Zahl nachzuweisen waren, wovon sich Luger und Lauda an einem ihnen übergebenen Präparat zu überzeugen Gelegenheit hatten. Das Fehlen der Passagen fällt hier um so weniger in die Wagschale, als die fast gleichzeitig vorgenommenen Versuche mit Herpes genitalis (Passageversuche, Kaninchen, Mensch) mich gerade von der Spezifität der „Kerneinschlüsse“, zumindest in dem Maße überzeugt hatten, wie wir dies allgemein von der spezifischen Rolle der Guarnierischen Körper anzunehmen gewohnt sind. Es würde daher dem wissenschaftlichen Fortschritt zweifellos dienlicher sein, wollte man bei der Niederschrift von Arbeiten größere Sorgfalt walten lassen und, bei selbstverständlicher Wahrung der eigenen Ansichten, die von anderen gefundenen Tatsachen anerkennen und in richtiger Form wiedergeben.

Wien im März 1924.

Nachdruck verboten.

Die Agglutination mit dem Tuberkulose-Diagnostikum nach Fornet zur Erkennung der Rindertuberkulose[1]).

[Aus dem Veterinärhygienischen u. Tierseucheninstitut der Universität Gießen (Direktor: Prof. Dr. Zwick).]

Von Assistent Dr. med. vet. **P. Karmann.**

Außer den allergischen Reaktionen sind sowohl in der Human- als auch in der Veterinärmedizin zur Diagnose der Tuberkulose spezifische serologische Methoden angewandt worden, darunter auch die Agglutination.

Voraussetzung für die Anstellung der Agglutination ist das Vorhandensein einer homogenen Emulsion von Tuberkelbazillen, die aber nicht ohne weiteres hergestellt werden kann, da die Tuberkelbazillen eine für Wasser unbenetzbare Fettwachshülle besitzen.

Deshalb suchten Robert Koch (10), v. Behring und Romberg (12) durch Zerreiben, also auf mechanischem Wege, diesen Fettwachspanzer zu beseitigen, während Arloing u. Courmont (1) sowie Calmette u. Guérin (2) durch chemische Verfahren entweder von vornherein die Bildung der Fettwachshülle zu verhindern (Arloing u. Courmont), oder den bereits vorhandenen Wachspanzer zu beseitigen (Calmette u. Guérin) suchten. Aber alle diese Maßnahmen erwiesen sich als ungeeignet zur Gewinnung einer homogenen und haltbaren Emulsion.

Fornet (5) gelang es nun durch weitgehende mechanische Vorbehandlung und eingreifende chemische Aufschließung der Tuberkelbazillen durch Aetherdämpfe in seinem Aetherdampfapparat eine dünne, stabile und homogene Emulsion für Agglutinationszwecke herzustellen. Je nachdem dieses Tuberkulosediagnostikum mit Bazillen des Typus humanus oder des Typus bovinus hergestellt ist, unterscheidet Fornet ein humanes und ein bovines Diagnostikum.

1) Eingegangen am 12. April 1924.

Herr Dr. Fornet hat uns seinerzeit eine Probe seines bovinen Diagnostikums übersandt mit dem Ersuchen, es bei Rindern auf seine Brauchbarkeit zu prüfen. Das Ergebnis unserer bereits im März 1923 abgeschlossenen Versuche wurde damals Herrn Dr. Fornet seinem Wunsche entsprechend mitgeteilt. Die Veröffentlichung des Ergebnisses dieser Versuche hat sich aus äußeren Gründen verspätet.

Ueber die Ergebnisse der Agglutination mit dem humanen Diagnostikum liegen bereits zahlreiche Mitteilungen vor.

Fornet (6 u. 7) erhielt damit bei 93 Proz. der Tuberkulösen eine positive und bei 95 Proz. der Nichttuberkulösen eine negative Reaktion. Eine Agglutination mit dem Titer 1:60 und darüber gilt nach Fornet als positiv.

Christensen (3) kommt zu ähnlichen Ergebnissen wie Fornet. Doch dürfen nach ihm die Ergebnisse nur im Zusammenhalt mit dem gesamten Krankheitsbild verwertet werden, da in schweren Fällen von Tuberkulose vor dem Tode normale Werte vorhanden sein können.

Trenkels (13) und Dieners (4) Ergebnisse decken sich so ziemlich mit denen Fornets und Christensens.

Kohler (11) gelangt zu etwas anderen Werten. Nach seinen Befunden ist nämlich erst ein Titer von 1:200 und darüber ein Beweis für das Vorhandensein von Tuberkulose. Kohler hat bei einer Anzahl von Menschenseren auch das bovine Diagnostikum verwendet und damit bei einer Reihe Tuberkulöser einen hohen Agglutinationstiter erzielt, während der Titer bei Verwendung des humanen Diagnostikums sehr niedrig war.

Im Gegensatz zu allen früher genannten Autoren bezeichnen Hofmann u. Süßdorf (9) die Agglutination mit dem Tuberkulosediagnostikum als unbrauchbar für die Praxis, da sie einen Unterschied zwischen dem Verhalten von positiven und negativen Seren nicht wahrnehmen können.

Ueber Versuche mit dem bovinen Diagnostikum liegt bis jetzt nur die Mitteilung von Haendler (8) vor. Dieser prüfte 31 Sera von tuberkulösen Rindern, konnte aber ausschlaggebende Unterschiede in der Agglutinationsstärke nicht feststellen.

Von mir wurden insgesamt 11 Seren tuberkulöser und 9 Seren gesunder Rinder mit dem bovinen Diagnostikum geprüft.

Die Blutproben der gesunden und von 10 tuberkulösen Rindern wurden am Gießener Schlachthof während der Schlachtung oder gleich im Anschluß daran gewonnen. In letzterem Falle wurde das Blut aus dem Herzen, sonst aus den eröffneten Halsgefäßen entnommen und in sterilen Röhrchen aufgefangen. Sämtliche Tiere wurden nachher einer eingehenden Untersuchung unterzogen. Herrn Schlachthofdirektor Dr. Modde sei für die freundliche Ueberlassung des Materials auch an dieser Stelle verbindlichster Dank gesagt.

Ein Tier stand wegen offener Lungentuberkulose in der medizinischen Veterinärklinik in Behandlung. Die Diagnose der Tuberkulose war in diesem Falle durch den Nachweis der Tuberkelbazillen im Bronchialschleim gesichert worden. Das zur Agglutination nötige Blut wurde hier durch Aderlaß aus der Vena jugularis erhalten. Da dieses Tier auswärts geschlachtet wurde, so liegt uns ein pathologisch-anatomischer Befund nicht vor.

Berücksichtigt man die Ausdehnung der Tuberkulose, so waren bei 2 Tieren die Lungen, bei 4 Tieren Lungen und Brustfell und bei 4 Tieren Lungen, Brust-, Bauchfell und Eingeweide erkrankt. Ein Tier wies eine generalisierte Tuberkulose auf. In allen Fällen handelte es sich um ältere tuberkulöse Prozesse. Zeichen einer aktiven Tuberkulose waren in keinem Falle nachweisbar.

Bei der Versuchsanstellung wurden die Vorschriften von Fornet genau beachtet. Nur durchweg klare und von Hämolyse freie Seren wurden untersucht. Zur Verdünnung diente das Diagnostikum selbst, das vor Gebrauch tüchtig umgeschüttelt und dann einige Stunden

stehen gelassen worden war. Die nötige Menge des Diagnostikums wurde von der Oberfläche mit steriler Pipette entnommen. An Serumverdünnungen wurden hergestellt 1:10, 1:20, 1:40, 1:80 usw. bis 1:5120. In jedem Röhrchen befand sich 0,5 ccm mit dem Diagnostikum verdünntes Serum. Die Röhrchen wurden nach Herstellung der Verdünnungen durchgeschüttelt und für 12 Std. in den Brutschrank verbracht. Nach weiterem $^1/_4$stünd. Aufenthalt bei Zimmertemp. wurde das Ergebnis makroskopisch und mit Hilfe des Agglutinoskops abgelesen.

Von den Seren der gesunden Rinder ergaben eine deutliche Agglutination bis 1:40 1, bis 1:160 3, bis 1:320 4 und bis 1:640 1. Die normalen Rinderseren wiesen demnach bei Verwendung des bovinen Diagnostikums einen viel höheren Titer auf als normale Menschenseren mit dem humanen Diagnostikum. Unsere Befunde decken sich teilweise mit denen Haendlers, der bei gesunden Rindern einen Titer bis 1:6400 ermittelte. Ein Einfluß des Alters der Blutspender auf die Höhe des Titers war bei unseren Versuchen nicht zu beobachten.

Von den Seren der tuberkulösen Tiere erreichten einen Titer von 1:80 1, 1:160 4, 1:320 1, 1:640 1, 1:1280 2, 1:2560 1 und 1:5120 1. Demnach wurde der bereits von einem Normalserum erreichte Titer von 1:640 nur von 4 = 36 Proz. der tuberkulösen Seren überschritten. Bemerkenswert ist, daß die Kälber und Jungtiere den Titer von 1:640 nicht überschritten, während 4 von 5 ausgewachsenen Rindern die hohen Titer (1:1280, 1:2560 und 1:5120) erreichten. Die Ausdehnung der tuberkulösen Prozesse hat bei unseren Versuchen einen Einfluß auf das Ergebnis der Agglutination anscheinend nicht ausgeübt.

Aus den von mir mit dem Fornetschen bovinen Diagnostikum angestellten Versuchen hat sich demnach ergeben, daß durchgreifende Unterschiede im Verhalten der Seren von gesunden Rindern einerseits und denjenigen von tuberkulösen andererseits nicht festgestellt werden konnten. Das bovine Tuberkulosediagnostikum nach Fornet ist demnach in seiner jetzigen Zusammensetzung zur Diagnose der Rindertuberkulose nicht geeignet.

Literatur.

1) Arloing u. Courmont, Ztschr. f. Tub. Bd. 1. S. 11. — 2) Calmette, A., La Tuberculose. Paris (Masson & Cie.) 1920. — 3) Christensen, E., Med. Klin. 1922. Nr. 16. — 4) Diener, Jos., Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 22. — 5) Fornet, W., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 87. H. 1. — 6) Ders., Zur Serodiagnostik der Tuberkulose. (33. Kongr. f. inn. Med. Wiesbaden, 18. bis 21. 4. 1921.) — 7) Ders., Dtsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 138. S. 229. — 8) Haendler, Eberhard, Arch. f. wissensch. u. prakt. Tierheilk. Bd. 50. S. 111. — 9) Hofmann u. Süßdorf, Dtsch. med. Woch. 1923. S. 1550. — 10) Koch, Rob., Dtsch. med. Woch. 1901. S 829. — 11) Kohler, Albert, Klin. Woch. 1923. S. 635. — 12) Romberg, E., Münch. med. Woch. 1902. S. 89. — 13) Trenkel, H., Schweiz. med. Woch. 1922. Nr. 39.

Nachdruck verboten.

Zur Diagnostik der Paratyphusbazillen der Hogcholeragruppe.

[Aus dem Institut für Seuchenlehre der k. ung. tierärztlichen Hochschule in Budapest (Direktor: Hofrat Prof. Dr. F. v. Hutyra).]

Von Prof. Dr. **R. Manninger.**

Nachdem Gärtner (1888) das von ihm B. enteritidis benannte Bakterium als Ursache einer Fleischvergiftungsepidemie nachgewiesen hatte, mehrten sich ähnliche Bakterienbefunde. Da jedoch zwischen den Bakterien, die man gelegentlich von Fleischvergiftungsepidemien reingezüchtet hat, in ihrem serologischen Verhalten Unterschiede beobachtet wurden, so hat de Nobèle bereits 1899 die Fleischvergifter in 2 Gruppen geteilt. In die eine Gruppe reihte er die Bazillen vom Typus des Gärtnerschen Enteritisbazillus und in die andere jene, die sich serologisch ähnlich verhielten, wie jener Fleischvergifter, der von ihm zuerst (1892) in der Stadt Aertryck isoliert worden war. Als dann Schottmüller (1900) nachgewiesen hatte, daß bei gewissen typhösen Krankheitsfällen des Menschen nicht der Typhusbazillus, sondern der von Achard und Bensaude bereits 1896 nachgewiesene und von ihm als B. paratyphi B benannte Keim den Krankheitserreger darstellt, sind Schottmüller und andere Forscher, insbesondere Uhlenhuth, auf Grund groß angelegter vergleichender Untersuchungen zu dem Schluß gelangt, daß der B. paratyphi B in allen wesentlichen bakteriologischen und serologischen Eigenschaften mit den Vertretern der Aertryck-Gruppe übereinstimmt, vom B. enteritidis Gärtner jedoch verschieden ist.

Der B. paratyphi B und die Aertryck-Bazillen wurden dann in der Folge identifiziert und da durch vergleichende Untersuchungen ferner nachgewiesen worden ist, daß auch gewisse Erreger von Tierkrankheiten, die zum Teil bereits schon seit längerer Zeit bekannt waren, mit dem B. paratyphi B übereinstimmende Merkmale aufweisen, so hat man auch diese Bakterienarten der Paratyphus B-Gruppe einverleibt. Auf diese Weise wurden in die Paratyphus B-Gruppe verwiesen der B. suipestifer, der Löfflersche Mäusetyphusbazillus, der Psittakosebazillus, die Erreger gewisser Fälle der Kälberruhr und pseudotuberkulöser Erkrankungen von Nagetieren, das Bakterium des seuchenhaften Verfohlens von Smith und Kilborne usf.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse herrschte noch vor einigen Jahren ganz allgemein die Auffassung, daß die Paratyphusbazillen, abgesehen vom B. paratyphi A, eine große Gruppe, die Hogcholeragruppe, bilden, in der sich zwischen den hierher gehörenden Bakterien kulturell und biochemisch keine hinreichenden Unterschiede feststellen lassen, die eine weitere Einteilung zuließen und auch in serologischer Hinsicht nur zwei Untergruppen, die Gruppe des B. enteritidis Gärtner und die Gruppe der Paratyphus B-Bazillen, unterschieden werden können, innerhalb deren jedoch eine weitere Differenzierung nicht mehr durchführbar ist. Es herrschte daher die Auffassung, daß innerhalb der genannten zwei Gruppen nur Unterschiede in der Pathogenität bestehen.

Diese Auffassung hat in den letzten Jahren eine Umwandlung erfahren. Vorerst hat besonders Pfeiler auf die Möglichkeit hingewiesen, durch Heranziehen von Suipestifer-Voldagsen-(Ferkeltyphus-)Seren, innerhalb der Paratyphus B-Gruppe den B. suipestifer (Kunzendorf) von den übrigen Vertretern der Gruppe mit Sicherheit absondern zu können. Er wies nämlich nach, daß aus der Gruppe der Paratyphus B-Bazillen nur die Suipestiferbazillen durch dieses Serum hoch agglutiniert werden können, demgegenüber die anderen Vertreter dieser Gruppe unbeeinflußt bleiben.

Im Kieler hygienischen Institut hat dann vornehmlich Bitter nachgewiesen, daß auch die anderen Vertreter dieser Gruppe, die sich nicht als Suipestiferbazillen erweisen, in 2 Typen eingeteilt werden können, je nachdem sie unter gewissen Umständen in ihren Kulturen Schleim bilden und im Fütterungsversuch Mäuse zu töten vermögen. Es hat sich ferner gezeigt, daß diesen Eigenschaften entsprechend zwischen den beiden Typen auch Unterschiede in ihrer Beeinflußbarkeit durch entsprechende hochwertig agglutinierende Sera bestehen. Auf Grund dieser Ergebnisse unterscheidet Bitter den ausschließlich nur menschenpathogenen B. paratyphi B vom B. enteritidis Breslau (Flügge-Kaensche = B. Aertryck de Nobèle), dem sowohl menschen-, als auch tierpathogene Eigenschaften zukommen.

Diese Angaben wurden von anderen Forschern (Manteufel und Beger, Zeller, Schiff u. a.), die sich zur Unterscheidung der genannten Typen teils auch des Castellanischen Absättigungsverfahrens, teils der Methode der Rezeptorenanalyse nach Weil und Felix bedienten, im großen und ganzen bestätigt, nur die Schleimbildungsfähigkeit konnte in mehreren Fällen für den B. paratyphi B nicht festgestellt werden, wofür jedoch angenommen werden dürfte, daß es sich zum Teil um alte Sammlungsstämme gehandelt hat, die das Schleimbildungsvermögen während der langen Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden eingebüßt hatten.

Auf Grund dieser neueren Forschungstatsachen müßte folglich angenommen werden, daß innerhalb der Hogcholeragruppe derzeit vier Typen unterschieden werden können, u. zw. B. enteritidis Gärtner, B. paratyphi B, B. enteritidis Breslau und B. suipestifer.

Da diese Einteilung derzeit noch nicht allgemein gebilligt wird und namentlich M. Müller in der Paratyphusfrage nach wie zuvor bloß ein Virulenzproblem erblicken zu müssen glaubt, so sei es mir gestattet, das Ergebnis meiner diesbezüglichen Untersuchungen kurz mitzuteilen[1]).

Es handelt sich um ein Material von 66 Paratyphusstämmen, deren Ursprung genau bekannt ist. Größtenteils habe ich sie im Laufe der letzten 12 Jahre selbst isoliert, es befinden sich jedoch unter ihnen auch einige Stämme, die ich der Liebenswürdigkeit der Herren Proff. DDr. Bitter, Manteufel und Pfeiler verdanke, wodurch ich in die Lage versetzt war, meine bisherigen Stämme auch mit wohlbekannten Sammlungsstämmen deutschen Ursprunges zu vergleichen.

Ich habe zu den in dieser Arbeit mitgeteilten Versuchen nur Paratyphusstämme benutzt, die biochemisch der Hogcholeragruppe angehören, die folglich Milchzucker nicht vergären, dagegen aus Traubenzucker und Mannit Gas und Säure entwickeln und Lakmusmolke von Kahl-

1) Ein Teil meiner Versuche, der sich auf die Suipestifer-Bazillen bezieht wurde bereits 1922 veröffentlicht (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. S. 23).

baum anfangs röten, nach einigen Tagen jedoch wieder bläuen. Hierher gehören folglich auch jene Paratyphusbazillen, die bei manchen Fällen des seuchenhaften Verfohlens nachgewiesen werden können. Mit diesen letzteren Bazillen werde ich mich jedoch im Laufe meiner Darstellung vorderhand nicht befassen, sondern sie gesondert behandeln.

Unter den geprüften Stämmen befanden sich 12 Stämme des B. paratyphi B (Schottmüller) aus typhös erkrankten Menschen, 5 Fleischvergifter vom Typus Breslau aus Menschen, 10 Breslau-Stämme aus Tieren (1 Psittakosestamm, 1 Mäusetyphusstamm, je 2 Stämme aus Finken, sowie jungen Gänschen und Entchen, 2 Stämme aus an Pseudotuberkulose erkrankten Meerschweinchen, je ein Stamm aus der pneumonischen Lunge eines staupekranken Hundes, bzw. aus einem Fall von Schweinediphtherie [Schmiedhoffer]), 20 Suipestiferstämme (17 hiesige Stämme aus paratyphuskranken Ferkeln, 1 Kunzendorf-Stamm Pfeilers und je 1 Erzindjan- und Paratyphus β-Stamm aus Menschen), 10 Gärtner-Stämme (2 aus Menschen, 5 aus Kälbern, 2 aus erwachsenen Rindern, 1 aus einer Ratte) und endlich 8 Stutenabortusstämme.

Bei diesen Untersuchungen befaßte ich mich in erster Linie mit der Möglichkeit der Typentrennung auf serologischem Wege und benutzte hierzu Kaninchenimmunsera.

Es ließ sich vorerst nachweisen, daß sämtliche Stämme unter Zuhilfenahme eines Gärtnerserums (Titer 1:5000) scharf in 2 Gruppen geteilt werden können, von denen die Vertreter der Gärtner-Gruppe, gleichviel, ob sie aus Menschen oder aus Tieren stammten, durch das Serum hoch agglutiniert wurden, die übrigen Stämme hingegen, die ich einfachheitshalber als Bazillen der Paratyphus B-Gruppe im weiteren Sinne bezeichnen möchte, selbst in Verdünnungen von 1:100 nicht beeinflußt wurden.

Diese Versuche bestätigen folglich neuerdings die Berechtigung der Uhlenhuthschen Unterscheidung der Gärtner-Bazillen von den übrigen Vertretern der Hogcholeragruppe.

Sodann wurden die Vertreter der Paratyphus B-Gruppe im weiteren Sinne mit einem Paratyphus B-(Schottmüller-)Serum geprüft. Dieses Serum mit einem Titer von 1:5000 agglutinierte die Stämme in folgenden Verdünnungen:

Paratyphus B (Schottmüller)-Stämme aus typhös erkrankten Menschen	1:2000—5000
Fleischvergifter vom Typus Breslau aus Menschen	1:200 —1000
Paratyphusstämme aus verschiedenen Tierarten (B. enteritidis Breslau)	1:500 —1000
Suipestifer-Stämme aus Schweinen	0 —1:1000
Suipestifer-Stämme aus Menschen (B. Erzindjan, B. paratyphi β)	0 —1:100

Hieraus ergibt sich, daß durch Agglutination mit Paratyphus B-Serum tatsächlich Unterschiede zwischen den Paratyphus B-Bazillen und den übrigen Vertretern der Paratyphus B-Gruppe im weiteren Sinne festgestellt werden können, doch reicht die einfache Agglutinations-Probe mit Paratyphus B-Serum wegen der nicht unerheblichen Mitagglutination nicht aus, um Paratyphus B-Bazillen von den übrigen Typen hinreichend unterscheiden zu können.

Sicher ließen sich jedoch alle 3 Typen bei Verwendung nur dieses Paratyphus B-Serums nach dem Castellanischen Verfahren unterscheiden. Zu diesem Zwecke digerierte ich je 10 ccm 1:50 verdünntes

Serum 2 Std. lang bei 37° mit drei 24 Std. alten Schrägagarkulturen von Bakterien verschiedener Typen, zentrifugierte dann und verwendete die nunmehr klare Serumverdünnung zur Agglutination. Falls Kulturen zur Adsorption benutzt wurden, die gut agglutinierbar waren und Agglutinine hinreichend zu binden vermochten, so ergab sich, daß

1) durch das Paratyphus B-Serum nach dessen Erschöpfung mit Paratyphus B-Bazillen Breslau- sowie Suipestifer Bazillen überhaupt (selbst in der Verdünnung von 1:100) nicht beeinflußt wurden, und auch Paratyphus B-Bazillen in der Regel keine Verklumpung erfuhren. Nur ausnahmsweise kam es vor, daß Paratyphus B-Bazillen noch bis zur Verdünnung von 1:1000 agglutiniert wurden;

2) nach der Behandlung mit Breslau-Bazillen agglutinierte das Serum (bis zur Verdünnung von 1:2000) nur Raratyphus B-Bazillen, enthielt jedoch keine Agglutinine mehr für Breslau- und Suipestifer-Bazillen;

3) endlich verschwanden nach der Adsorption mit Suipestifer-Bazillen die Agglutinine für Suipestifer-Bazillen, es verblieben jedoch im Serum noch Agglutinine, durch die (bis zur Verdünnung von 1:5000) Paratyphus B-Bazillen und (bis zur Verdünnung von 1:500) Breslau-Bazillen agglutiniert wurden.

Hiernach läßt sich das Ergebnis des Castellanischen Versuches bei Verwendung eines Paratyphus B-Serums folgendermaßen bewerten:

1) Wird ein fraglicher Bakterienstamm agglutiniert durch das Serum nach erfolgter Behandlung mit Breslau- oder Suipestifer-Bazillen, dagegen nicht oder nur ausnahmsweise nach der Erschöpfung mit Paratyphus B-Bazillen, so handelt es sich um Paratyphus B-Bazillen.

2) Wird ein Stamm durch das Serum nach Vorbehandlung mit Paratyphus B- und mit Breslau-Bazillen nicht agglutiniert, dagegen nach einer solchen mit Suipestifer-Bazillen noch beeinflußt, so ent- entspricht er dem B. enteritidis Breslau.

3) Wird schließlich der untersuchte Stamm durch das Serum überhaupt nicht mehr agglutiniert, einerlei ob zur Absorption Paratyphus B-, Breslau- oder Suipestifer-Bazillen verwendet worden sind, so handelt es sich um Suipestifer-Bazillen.

Mit einem Breslau-Serum (Titer 1:5000) erhielt ich bei einfacher Agglutination folgende Werte:

Stämme des B. paratyphi B	1:100 —500
Breslau-Stämme aus Menschen	1:2000—5000
Breslau-Stämme aus Tieren	1:1000—5000
Suipestifer-Stämme aus Schweinen	1:200 —500
Suipestifer-Stämme aus Menschen	1:100 —200

Hiernach gelingt es, mit Breslau-Serum Breslau-Bazillen durch die einfache Agglutinationsprobe, wenngleich nicht besonders scharf, von den übrigen Vertretern der Paratyphus B-Gruppe im weiteren Sinne zu trennen.

Mit Hilfe des Castellanischen Versuches gelang es auch, bei Verwendung von Breslau-Serum sämtliche 3 Typen voneinander zu unterscheiden. Es zeigte sich nämlich, daß

1) die Unterbindung der Rezeptoren mit Breslau-Bazillen die Agglutinationsfähigkeit des Serums für alle 3 Typen zum Erlöschen brachte;

2) das Serum nach Vorbehandlung mit Paratyphus B-Bazillen nur

noch Breslau-Bazillen (bis 1:200—1000) agglutinierte, für Paratyphus B-Bazillen sowie für Suipestifer-Stämme dagegen sich unwirksam erwies und endlich

3) das Serum mit Suipestifer-Bazillen vorbehandelt, nur für Suipestifer-Bazillen unwirksam geworden ist, Paratyphus B- (1:100—200) und Breslau-Bazillen (1:1000—2000) dagegen agglutinierte.

Aus dieser Feststellung folgt, daß bei Verwendung von geeigneten Breslau-Seren

1) ein fraglicher Stamm als B. paratyphi B angesehen werden kann, falls er nach der Absorption des Serums mit Suipestifer-Bazillen noch agglutiniert wird, nach einer solchen mit Paratyphus B- und Breslau-Bazillen dagegen nicht mehr beeinflußt wird,

2) der untersuchte Stamm als B. enteritidis Breslau angesprochen werden darf, falls das Serum ihn nach der Behandlung mit Breslau-Bazillen nicht, dagegen nach einer solchen mit Paratyphus B- und mit Suipestifer-Bazillen noch agglutiniert und endlich

3) es sich um Suipestifer-Bazillen handelt, falls die untersuchten Bazillen unbeeinflußt bleiben, einerlei mit welchem Typus immer die Vorbehandlung des Serums erfolgt war.

Endlich hat die Prüfung der Stämme mit einem Suipestifer-Serum (Titer 1:10000) folgende Agglutinationswerte ergeben:

Stämme des B. paratyphi B	1:200—500
Breslau-Stämme aus Menschen	0 —1:1000
Breslau-Stämme aus Tieren	0 —1:200
Suipestifer-Stämme aus Schweinen	1:5000—10000
Suipestifer-Stämme aus Menschen	1:5000

Dieses Serum vermochte auch Voldagsen-Bazillen (2 Stämme) in der Verdünnung von 1:2000 zu agglutinieren.

Hiernach ließen sich Suipestifer-Bazillen bei Verwendung von Suipestifer-Serum vom B. paratyphi B und von Breslau-Bazillen ziemlich scharf unterscheiden. Im Castellanischen Versuch gelang es jedoch nicht, auch zwischen den letzteren 2 Typen Unterschiede festzustellen. Es zeigte sich nämlich, daß

1) die Erschöpfung des Serums mit Suipestifer-Bazillen sämtliche Agglutinine verschwinden ließ, dagegen

2) das Serum nach der Vorbehandlung sowohl mit Paratyphus B-Bazillen als auch mit Breslau-Bazillen nur noch Suipestifer-Bazillen (1:200—500) agglutinierte.

Bei Verwendung von Suipestifer-Serum verspricht somit der Castellanische Versuch nicht mehr Auskunft über die Zugehörigkeit eines fraglichen Stammes zu einem der 3 Typen, als die einfache Agglutinationsprobe.

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich folgendes: Die Bakterien aus der Hogcholeragruppe lassen sich mit Hilfe der Agglutinationsprobe bei Verwendung von Gärtner-Serum in 2 Gruppen teilen. Die agglutinierenden Stämme gehören der Gärtner-Gruppe an. Die Gruppe der nicht agglutinierenden Stämme läßt sich durch entsprechende Sera in weitere 3 Typen (B. paratyphi B, B. enteritidis Breslau, B. suipestifer) einteilen. Bei gleichzeitiger Verwendung von Paratyphus B-, Breslau- und Suipestifer-Seren gelingt es mühelos, den fraglichen Stamm zu bestimmen, da die hierher gehörenden Bakterien stets vom homologen Serum am besten, meist bis zur Titergrenze agglutiniert werden, von den übrigen dagegen entweder überhaupt nicht,

oder doch nur mäßig oder kaum beeinflußt werden. Da nun die Sera außer spezifischen auch unspezifische Agglutinine enthalten, so gelingt es im Castellanischen Versuch bei Verwendung von geeigneten Paratyphus B- oder Breslau-Seren und wohldefinierter, gut bindender Paratyphus B-, Breslau- und Suipestifer-Stämmen auch mit Hilfe nur eines Serums Stämme zu identifizieren. Suipestifer-Sera eignen sich hierzu vermutlich nicht. Vorbedingung der Verwendbarkeit des Castellanischen Versuches ist selbstverständlich die Agglutinierbarkeit des fraglichen Stammes in dem zur Verfügung stehenden Serum. Wird ein Stamm, wie es besonders bei Suipestifer-Stämmen vorzukommen pflegt, von dem verwendeten Paratyphus B- oder Breslau Serum überhaupt nicht agglutiniert, so kann er nur durch die Agglutinationsprobe mit den dreierlei Serumarten bestimmt werden.

Die Paratyphus B- und Breslau-Stämme lassen sich, auch nach meinen Erfahrungen, abgesehen vom Fütterungsversuch an Mäusen, auch durch das Vorhandensein oder Fehlen des Schleimbildungvermögens, wie dies von der Kieler Schule immer wieder betont wird, unterscheiden.

Der Nachweis der Schleimbildung kann auf verschiedene Weise erbracht werden. Ich selbst habe mich am einfachsten und am sichersten über das Schleimbildungsvermögen auf die Weise überzeugen können, daß ich mit den Bakterien schief erstarrten Agarnährboden ohne Zuckerzusatz von einer pH von 7,6 beimpfte und dann die Kulturen bei Zimmertemperatur sich entwickeln ließ. Bereits innerhalb von 24—48 Std. entstehen dann üppige Kulturen, die, falls es sich um Paratyphus B-Bakterien handelt, sehr schleimig, weißlich, undurchsichtig sind — die Kultur macht den Eindruck, als wenn die Agaroberfläche mit einer dicken Rahmschicht überstrichen wäre —, oder sie sind, falls die Beimpfung mit Breslau-Bazillen erfolgt war, mehr oder weniger trocken, manchmal wohl auch saftig, jedoch stets durchsichtig und irisierend. Ich habe in dieser Richtung 12 Paratyphus B- und 15 Breslau-Stämme untersucht und nur 1 Ausnahmefall beobachtet, wo es sich um einen serologisch als typisches Paratyphus B-Bakterium imponierenden Stamm handelte, den ich allerdings bereits 1913 aus einem Eiterherd eines typhös erkrankten Kindes isolierte und der somit im Laufe von 10 Jahren das Schleimbildungsvermögen offenbar verloren hat.

Von den bisher besprochenen Vertretern der Paratyphusbazillen lassen sich die Paratyphusbazillen des Verfohlens auf Grund ihrer kulturellen Merkmale unschwer unterscheiden. Sie wachsen nämlich auf Agar, zumindest frisch isoliert, in Form trockener, gerunzelter Beläge und auch auf dem sonst klaren Kondenswasser entsteht ein trockenes Häutchen. Serologisch verhalten sie sich, worauf bereits Gminder hingewiesen hat, nicht einheitlich und auch nach meinen Erfahrungen lassen sie sich keinem, der bisher erwähnten Typen hinzurechnen. Sie wurden gut, mitunter fast bis zur Titergrenze, von Breslau- und Gärtner-Seren agglutiniert, dagegen wenig oder überhaupt nicht von Paratyphus B- und Suipestifer-Seren. (Einzelne Stämme zeigen Spontanagglutination.) Dabei bestehen Unterschiede auch in dieser Hinsicht zwischen Stämmen verschiedener Herkunft. Einzelne Stämme werden besser durch Breslau-, andere wieder eher durch Gärtner-Serum beeinflußt, sodaß sich vorderhand nur soviel sagen läßt, daß sie in serologischer Hinsicht mit den Breslau- und

Gärtner-Bazillen verwandt erscheinen, ohne jedoch mit diesen, schon wegen ihres abweichenden kulturellen Verhaltens, identifiziert werden zu können.

Auf Grund eigener Untersuchungen, sowie von Literaturangaben lassen sich die Bakterien der Hogcholeragruppe in 5 voneinander scharf abtrennbare Typen einteilen:

B. paratyphi B (Schottmüller). Vorkommen: Mensch (in kranken Tieren noch nicht vorgefunden).

B. enteritidis Breslau (Aertryck). Vorkommen: Mensch (Fleischvergiftungen), Schaf (Epidemie in Ueberruhr), Rind (?), Schwein (Rachendiphtherie), Vogelarten (Psittakose, Paratyphus der Kanarienvögel, Finken, Gänschen und Entchen), Nagetiere (Mäusetyphus, Meerschweinchenpseudotuberkulose), Hund (Staupepneumonie).

B. enteritidis Gärtner. Vorkommen: Mensch (Fleischvergiftungen), Rind, Pferd, Schwein, Ratte.

B. suipestifer. Vorkommen: Mensch (B. Erzindjan, B. paratyphi β, B. enteritidis Bernhardt), Schwein (Paratyphus, Schweinepest?); serologisch mit diesem Typus verwandt, von ihm in kultureller Hinsicht jedoch verschieden ist der B. suipestifer Voldagsen (Ferkeltyphusbazillus), der bisher nur in Schweinen angetroffen worden ist.

B. paratyphi abortus equi. Vorkommen: Pferd (infektiöses Verfohlen, Fälle von Fohlenlähme).

Hieraus ergibt sich in hygienischer Hinsicht folgendes:

Da auch nach meinen Untersuchungen, deren Ergebnis sich in dieser Beziehung mit den Feststellungen der Kieler Schule vollkommen deckt, der B. paratyphi B nur bei Menschen eine Krankheit verursacht, in kranken Tieren dagegen nicht angetroffen wird, so folgt, daß der Mensch mit Paratyphus B-Bazillen nur von seinen Mitmenschen durch unmittelbare oder mittelbare Uebertragung des Krankheitskeimes angesteckt wird. Fleisch von Schlachttieren vermag somit Paratyphus B-Bazillen nur dann zu übertragen, falls es postmortal, bei unsauberer Behandlung, mit Exkreten von Kranken oder von Dauerausscheidern infiziert wird.

Hiergegen kommen B. enteritidis Gärtner und B. enteritidis Breslau sowohl bei Erkrankungen des Menschen, als auch bei Tieren vor. Stämme dieser Bakterientypen verhalten sich in bakteriologischer und serologischer Hinsicht vollkommen gleichartig, einerlei, ob sie aus Menschen oder Tieren isoliert worden sind, daher ist Fleisch von Tieren, die an durch diese Bakterientypen verursachtem Paratyphus erkrankt sind, vom menschlichen Genuß auszuschließen, da es sonst unter entsprechenden Umständen zu Fleischvergiftungen kommen kann. Auch sonst ist für den Menschen bei der Behandlung paratyphuskranker Tiere Vorsicht geboten (Psittakose!).

Den Suipestiferbazillus hat man außer dem Schweine auch bei Menschen vorgefunden und zwar haben ihn Neukirch in der Umgebung von Konstantinopel und in Anatolien (B. Erzindjan). Weil und Saxl in Albanien und Wolhynien (B. paratyphi β), endlich in Deutschland (B. enteritidis Bernhardt) isoliert. Man hat die betreffenden Stämme vorerst für den B. suipestifer Voldagsen gehalten, doch haben Manteufel, Zschucke und Beger, sowie Zeller nachgewiesen, daß es sich um typische Suipestifer-Bazillen handelt. Durch die Liebenswürdigkeit des Herrn Dr. Manteufel war es auch

mir möglich, je 1 Stamm des B. Erzindjan und des B. paratyphi β mir einem Suipestifer-Stamm deutscher Herkunft (Stamm Kunzendorf) und mit hiesigen Suipestifer-Stämmen aus paratyphuskranken Ferkeln zu vergleichen. Ich habe keinerlei Unterschiede zwischen diesen Bazillen menschlicher und tierischer Provenienz nachweisen können und glaube mich daher der Ansicht Manteufels und seiner Mitarbeiter, sowie Zellers anschließen zu können, wonach die bisher aus Menschen isolierten Stämme mit solchen aus Schweinen identisch sind. Meine Erfahrungen haben somit die Auffassung von Bitter und Holtz, wonach die Erzindjan- und Paratyphus β-Bazillen als B. paratyphi C und die Bernhardtschen Bazillen, die sie dem Typus Voldagsen zurechnen, voneinander und vom Schweine-Suipestifer verschieden seien, nicht bestätigen können. Uebrigens hat auch Schiff unter Zuhilfenahme der Rezeptorenanalyse von Weil und Felix, zwischen Schweine-Suipestifer- und Erzindjan-Bazillen keine derartigen Verschiedenheiten im serologischen Verhalten nachweisen können, die meines Erachtens eine Unterscheidung menschen- und schweinepathogener Suipestifer-Bazillen ungezwungen zuließen.

Da nun die Suipestifer-Bazillen aus Schweinen und aus Menschen als identisch angesehen werden können, so besteht auch die Möglichkeit, daß Menschen nach dem Genuß von Schweinefleisch, das Suipestifer-Bazillen enthält, an einer Suipestifer-Infektion erkranken können. Erfahrungstatsachen lassen sich zur Klärung dieser Frage vorderhand allerdings nicht verwerten, da über Suipestifer-Infektionen beim Menschen bisher wenig bekannt geworden ist und auch die spärlichen Angaben nicht eindeutig sind. So hat Bernhardt beispielsweise angegeben, daß die Personen, unter denen Erkrankungen an Suipestifer-Infektionen stattgefunden haben, kein Schweinefleisch genossen hätten, während Ilgner diese Behauptung auf Grund seiner Erhebungen verneint. Künftigen Erfahrungen wird es daher vorbehalten sein, die Frage endgültig zu beantworten, ob Suipestifer-Bazillen aus Schweinen mitunter auch bei Menschen Erkrankungen hervorzurufen vermögen. Angesichts der bakteriologischen und serologischen Identität der Suipestifer-Bazillen aus Schweinen und aus Menschen ist jedoch die Möglichkeit einer wechselseitigen Ansteckung ernstlich zu erwägen.

In dieser Hinsicht kämen in erster Linie Paratyphuserkrankungen der Ferkel in Betracht, die durch Suipestifer-Bazillen bedingt sind. Solche enzootisch auftretenden Erkrankungen gehören in Ungarn nicht zu den Seltenheiten und kommen, wie ich dies andernorts bereits entwickelte, vermutlich auch in Deutschland vor. Bei solchen Seuchenausbrüchen könnten Menschen besonders durch ungenügend gekochtes oder gebratenes Fleisch von Ferkeln gefährdet sein, die von der akuten Form der Krankheit betroffen sind, wo sämtliche Organe mit Suipestiferbazillen überschwemmt sind.

Weniger gefährlich erscheint in dieser Hinsicht die Schweinepest, da diese Krankheit durch ein für den Menschen ungefährliches filtrierbares Virus bedingt wird und es nach eigenen Erfahrungen zumindest fraglich erscheint, ob bei dem Entstehen der sekundären Veränderungen, wie dies sonst allgemein angenommen wird, Suipestiferbazillen tatsächlich mitbeteiligt sind. Die älteren Angaben im Schrifttum lassen sich zur Klärung dieser Fragen derzeit nicht mehr heran-

ziehen. Erstens sind nämlich die Untersuchungen, auf Grund deren Ergebnis die Rolle des Suipestifer-Bazillus als Sekundärbakterie bei der Entstehung von Darmgeschwüren bei der Schweinepest angenommen worden ist, zu einer Zeit vorgenommen worden, wo der Schweineparatyphus von der Schweinepest noch nicht abgetrennt worden war, und es sich somit in Fällen mit Suipestifer-Befund um Suipestifer-Paratyphusfälle handeln konnte und zweitens waren zu dieser Zeit die Methoden der Unterscheidung verschiedener Typen von Paratyphusbazillen voneinander und von anderen ähnlichen Bakterien noch unvollkommen. Uebrigens haben Theiler in Südafrika, sowie Clintoch, Boxmeyer und Siffer in Nordamerika über Schweinepestepizootien berichtet, bei denen Suipestifer-Bazillen stets vermißt wurden. Aehnliche Erfahrungen sammelte ich — wie bereits erwähnt — in den letzten drei Jahren in Ungarn. In 27 Fällen von Schweinepest, wo Darmveränderungen vorlagen, gelang es mir in keinem Falle weder in den Geschwüren, noch in den Darmlymphknoten Suipestifer-Bazillen nachzuweisen.

Bei dieser Sachlage erscheint es erwünscht, die Frage der Beteiligung der Suipestifer-Bazillen an dem Entstehen von Darmgeschwüren bei der Schweinepest an größerem Untersuchungsmaterial erneut zu prüfen. Sollte es sich dann zeigen, daß bei der Schweinepest Suipestifer-Bazillen überhaupt nicht oder doch nur ausnahmsweise als Sekundärbakterien anzutreffen sind, so würde hierdurch die Auffassung von v. Ostertag, wonach das Verzehren von Fleisch pestkranker Schweine für den Menschen ungefährlich ist, eine weitere Stütze gewinnen.

Literatur.

Bernhardt, Ztschr. f. Hyg. Bd. 73. 1913. S. 65. — Bitter, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 435., Dtsch. tierärztl. Woch. 1923. S. 221. — Bitter u. Holtz, Arch. f. Tierheilk. Bd. 50. 1923. S. 119. — Gminder, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 52. 1920. S. 113. — Januschke, Prag. tierärztl. Arch. T. B. 1923. H. 22. — Manteufel, Zschucke u. Beger, ebenda. Bd. 86. 1921. S. 214. — Manteufel u. Beger, ebenda. Bd. 87. 1922. S. 161. — M. Müller, ebenda. Bd. 80. 1918. S. 413; Bd. 81. 1918. S. 505; Deutsche tierärztliche Wochenschrift. 1923. S. 1. — Neukirch, Zeitschrift f. Hyg. Bd. 85. 1918. S. 103. — de Nobéle, Ann. Soc. méd. Gand. 1899 u. 1902. — Ostertag, Handb. d. Fleischbeschau. 5. Aufl. 1913. Stuttgart. (Enke). Bd. 2.; Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906. 45*. — Pfeiler, Weichardts Jahresber. d. Hyg. usw. Bd. 3. 1919. S. 289. — Pfeiler u. Engelhardt, Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. usw. Bd. 28. 1919. S. 434. — Schiff, Ztschr. f. Immunitätsf. Bd. 33. 1922. S. 511.; Bd. 35. 1922. S. 293. — Schottmüller, Dtsch. med. Woch. 1900. S. 511., Mohr-Staehelins Handb. d. inneren Medizin. Berlin (Springer). Bd. 1. 1911. S. 369. — Uhlenhuth u. Hübener, Kolle-Wassermanns Handb. d. path. Mikroorg. Jena (Fischer). Bd. 3. 1913. S. 1005. — Uhlenhuth, Hübener, Xylander u. Bohtz, Arb. a. d. Reichsgesundheitsamt. Bd. 27. 1908. H. 3.; Bd. 30. 1909. H. 2. — Weil, Wien. klin. Woch. 1917. S. 1061. — Weil u. Saxl, ebenda 1917. S. 519. — Zeller, Ztschr. f. Infektionskrankh. d. Haust. Bd. 23. 1922. S. 191.; Bd. 24. 1922. S. 1.

Nachdruck verboten.

Dermacentor reticulatus F. in Württemberg.

Von Prof. Dr. **R. Vogel**, Tübingen.

Die große, lebhaft braunrot und schwarz gefärbte Zecke Dermacentor reticulatus F., welche vornehmlich im Süden Europas und in Asien vorkommt, und wegen Uebertragung von Hunde- und Pferdepiroplasmen auch praktische Bedeutung hat, wurde im vorigen Jahrhundert wiederholt in Württemberg u. a. an Pferd und Wolf festgestellt[1]). Ein Exemplar, das von E. v. Hering 1871 an einem Pferd gefunden wurde, befindet sich, wie mir Herr Prof. M. Rauther mitteilt, noch in der Stuttgarter Naturaliensammlung. Nach v. Herings Funden scheinen keine weiteren in Württemberg gemacht zu sein. Daß die Zecke gleichwohl in diesem Gebiet — wenn auch vielleicht noch spärlicher als früher — vorkommt, beweist ein neuerlicher Fund, den ich Herrn Prof. P. Keßler (Tübingen) verdanke. Dieser fand im November 1921 gelegentlich einer Wanderung im Schönbuch eine Zecke an seiner Kleidung, die von mir als ein Weibchen des Dermacentor reticulatus F. bestimmt wurde. Das Exemplar befindet sich in der Sammlung des Tübinger Zoologischen Institutes. Leider läßt sich über den Wirt der Zecke im vorliegenden Falle nichts Sicheres aussagen.

Nachdruck verboten.

Die Verwendung des Seitzschen Entkeimungsfilters zur Entkeimung von Rotlaufserum.

[Aus der Hessischen Staatlichen Rotlaufimpfanstalt Gießen (Leiter: Vet.-Rat Dr. med. vet. et phil. J. Roßkopf).]

Von Tierarzt Dr. **Wilhelm Tron** in Darmstadt.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Es hat sich in der Praxis der Rotlaufserumfabrikation gezeigt, daß der staatlich vorgeschriebene Zusatz von Konservierungsmitteln in der üblichen Konzentration nicht genügt, um das Serum keimfrei oder auch nur keimarm zu machen bzw. zu erhalten. Weder die Einmischung von 0,5 Proz. Phenol, noch die Beigabe von 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung, noch der Zusatz von 10 Proz. Glyzerin, 0,55 Proz. Karbol und 1,5 Proz. salizylsaurem Natron konnten, wie aus den einschlägigen Versuchen zu entnehmen ist, ausreichen, um die in der Anlage A zur Viehseuchenpolizeilichen Anordnung des Minist. für Landwirtschaft, Domänen und Forsten vom 12. 2. 1919 Nr. I. A. III g 10052 geforderte Keimarmut zu garantieren.

Eine höherprozentige Beigabe von konservierenden Substanzen ist aber nach der besagten Anordnung unzulässig und verbietet sich auch aus anderen Gründen (Gewebsschädigungen bei der Injektion, außer-

1) Vgl. G. Haller, Bericht zur Kenntnis der Milbenfauna Württembergs. (Jahreshefte d. Vaterl. Ver. f. Naturk. Bd. 38. S. 82.)

ordentliches Schmerzgefühl gelegentlich der Applikation beim Menschen usw.).

Es mußten daher neue Wege gesucht werden, um einmal innerhalb der gesetzlich gezogenen Grenzen eine erhöhte Haltbarkeit des Rotlaufserums und damit volkswirtschaftlich außerordentlich wichtiger Werte zu erreichen und weiterhin das Serum für die Zwecke der Humanmedizin absolut brauchbar zu machen.

Während für die keimfreie Herstellung der relativ kleinen Mengen Rotlaufserum, welche in der Humanmedizin gebraucht werden, die bekannten Kleinfilter nach Chamberland, Pasteur-Chamberland, Nordtmeyer, Berkefeld, Reichel, Pukall u. a. genügt hätten, sind dieselben selbst bei Steigerung ihrer Abmessungen im Betrieb der Serumfabrik zur Erzielung der erforderlichen Mengen Filtrat nicht leistungsfähig genug. Dazu kommt ihre kurze Lebensdauer, der hohe Preis und die Umständlichkeit ihrer Verwendungsart.

Die Arbeitsart dieser Filtersysteme ist bekannt und von verschiedenen Autoren [Hesse (5), Heim (3, 4), Kißkalt (10), Kitt (13), Klimmer (14), Friedberger u. Pfeiffer (2)] eingehend beschrieben. Sie wurden in der Bakteriologie und im Weltkriege auch in der Wasserentkeimung verwandt. Zu erwähnen ist an dieser Stelle noch der sogenannte Sucrofilter der Sucrofilter- und Wasserreinigungsgesellschaft m. b. H., der aber, wie Hilgermann (9) nachgewiesen hat, für sich allein ein keimfreies Filtrat nicht liefert und nur in Verbindung mit anderen Verfahren eine gewisse Bedeutung gewonnen hat.

Die Not des Weltkriegs und die lebensnotwendige Forderung, den Truppen bei ihren Expeditionen in unzivilisierten Gegenden, wo allerlei Seuchen zu Hause sind, ein gesundheitlich einwandfreies Trinkwasser zu schaffen, stellte die einschlägige Industrie vor neue Aufgaben. Alte Probleme wurden wieder neu aufgenommen. Die von W. Hesse (6, 7, 8) schon 1885 nachgewiesene, infolge mangelhafter Versuchsanordnung aber von Mißerfolgen begleitete Verwendbarkeit des Asbestes zur keimfreien Filtration wurde von L. Heim (3, 4) richtig ausgewertet, in seinem Laboratorium von P. Schwenzer ausprobiert und von Heim weiter vervollkommnet. Mit dem von Heim angegebenen Apparat, der schon mit positivem Druck arbeitet, konnten aber nur kleine Mengen Filtrat erzielt werden.

Es ist das Verdienst der Seitz-Werke in Kreuznach, das Prinzip der Filtration durch Asbest neu aufgegriffen und durch Konstruktion einer außerordentlich sinnreich erdachten Filterpresse in eine Form gebracht zu haben, welche eine fabrikmäßige Filtration gestattet mit unbegrenzter Steigerung der Mengenleistung.

An das Seitzsche Entkeimungsfilter (EK-Filter Nr. 30/IV) waren von vornherein 4 Hauptforderungen zu stellen, nämlich absolute Entkeimungsleistung, genügende Mengenleistung, Schonung des Serumtiters und befriedigende Wirtschaftlichkeit. Um es vorweg zu nehmen, kann hier schon gesagt werden, daß der Filter nach allen 4 Gesichtspunkten vollauf befriedigt hat.

Aus den einschlägigen wissenschaftlichen Arbeiten von Spitta (20, 21), Kister (12) und Schätzlein (19) kann entnommen werden, daß der Seitzsche Entkeimungsfilter bereits bei der Entkeimung von 2 anderen Flüssigkeiten, nämlich des Wassers und des Weines, sämtliche Bedingungen erfüllt hat. Die Kontrollversuche bei

der Wasserentkeimung hatten ergeben, daß der Filter überall da, wo Einzelfilter benötigt werden, also unter gewissen Voraussetzungen im Felde, auf Schiffen und für Wohnhäuser, zur Einzelversorgung als leistungsfähig und brauchbar in Betracht kommt. Bei der Entkeimung bakterienkranker Weine mittels des Seitzschen Entkeimungsfilters erreicht man, wie die diesbezüglichen Versuche gezeigt haben, auf eine für den Wein viel schonendere Weise dasselbe, was man früher mit den Pasteurisierapparaten versucht hatte. Die Sterilisierung auf kaltem Wege erscheint aber direkt geboten bei feinen, blumigen Weinen, für die sich die Pasteurisierung von selbst verbietet. Hier ist die Domäne des Seitzschen Filters.

Die Versuche zur Entkeimung von Serum und serumartigen Flüssigkeiten, die durch Hitze nicht sterilisiert werden können, wurden

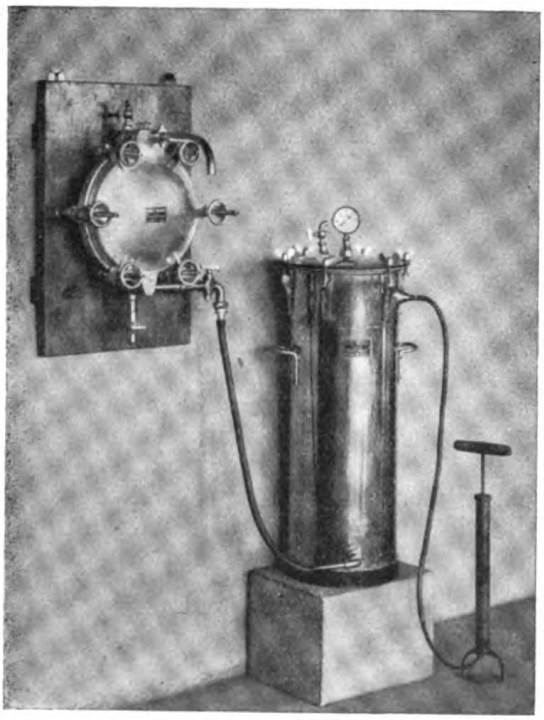


Fig. 1.

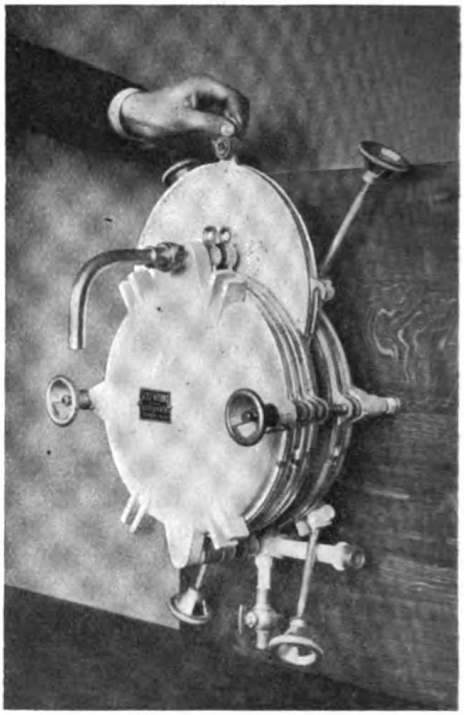


Fig. 2.

in der Staatlichen Hessischen Rotlaufimpfanstalt bei dem Ministerium des Innern in Darmstadt und Gießen angestellt. Filtriert wurde das in genannter Anstalt vorrätig gehaltene und dortselbst laufend produzierte Rotlaufserum. Der bei der Firma Seitz-Kreuznach beschaffte Entkeimungsfilter — EK-Filter Nr. 30/IV (Fig. 1 u. 2) — bei welcher Bezeichnung die Zahl 30 den Durchmesser der Filterschichten und die Zahl IV die Anzahl derselben darstellt, hat äußerlich die Form der in der chemisch-technischen Industrie vielfach gebräuchlichen Filterpressen; er ist nur zierlicher gebaut als dieser. Zwischen zwei senkrecht stehenden, gewölbten Deckeln von etwa 30 cm Durchmesser sitzt je nach der Größe und Mengenleistung des Apparates eine bestimmte Anzahl flacher Filterrahmen von gleichem Durchmesser. Die Hälfte dieser Rahmen, die sog. Trübrahmen, nimmt

die unfiltrierte Flüssigkeit auf, die andere Hälfte, die sog. Filtratrahmen, die entkeimte. Die Deckel zählen zu den Trübrahmen. Die Anordnung der Rahmen ist dergestalt, daß Trübrahmen und Filtratrahmen in der Reihenfolge miteinander abwechseln. Die Rahmen besitzen an ihrer Peripherie kleine ringförmige Angüsse, die sich beim Verschluß des Filters zu Kanälen vereinigen. Die Anordnung dieser Angüsse ist derart getroffen, daß unten am Filter ein Kanal für die Zuleitung der unfiltrierten Flüssigkeit, oben ein Kanal für Ableitung des Filtrates und daneben noch ein Entlüftungskanal entsteht. Eine Neukonstruktion des Apparates wird auch unten noch einen 2. Kanal aufweisen, durch den eine Leerfiltration des Filtergehäuses erleichtert wird. (Ein Blick auf die Figuren 1 und 2 veranschaulicht das Gesagte.)

Die wirksamen Teile des Seitzschen EK-Filters sind die EK-Filterschichten; es sind dies weiche, weiße Filterplatten von 30 cm Durchm. und ca. 3 mm Dicke. Diese EK-Schichten werden in höchst einfacher Weise in den Filterapparat eingesetzt, und zwar so, daß Trübrahmen und Filtratrahmen immer durch eine EK-Schicht voneinander getrennt sind. Die Schichten greifen etwas über den Rand der Filterrahmen über, wodurch erreicht wird, daß beim Zusammenpressen der letzteren mittels der 6 Verschlußschrauben die Dichtung durch die Filterschichten selbst zustande kommt und keine Gummidichtungen erforderlich sind. Dadurch wird die Betriebssicherheit sehr erhöht, denn Trüb- und Filtratrahmen sind in ihrem ganzen Umfange gegeneinander nur durch die keimdichten Filterschichten abgedichtet, und es kann kein Tropfen Flüssigkeit in einen Filtratrahmen gelangen, der nicht die EK-Schicht passiert hat. Die Unsicherheit, welche entsteht, wenn, wie bei anderen Filtertypen, der Trüb- und Filtratraum mittels oft rissiger Gummidichtungen gegeneinander abgedichtet sind, ist bekannt.

Wenn der EK-Filter gebrauchsfertig mit EK-Schichten beschickt ist, stellt er also ein Filtersystem von folgender Anordnung dar:

Rückendeckel (auf Wandbrett befestigt, zugleich Trübrahmen),
EK-Filterschicht,
Filtratrahmen,
EK-Filterschicht,
Trübrahmen,
EK-Filterschicht,
Filtratrahmen,
EK-Filterschicht,
Vorderdeckel (zugleich Trübrahmen).

Die Flüssigkeit tritt unterhalb des Filters durch das nach rechts abstehende (horizontal abstehende) Rohr ein; durch die zu einem Kanal vereinigten Stutzen (auf Fig. 1 unterhalb des Filters sichtbar) ergießt sie sich in die Trübrahmen, steigt in diesen hoch, durchdringt die EK-Schichten und tritt in die Filtratrahmen ein. Letztere haben ihre Stutzen oben, die zu einem Kanal vereinigt, das Filtrat zum Auslaufrohr weiterleiten.

Ein kurzes Rohrstück mit Hahn, das am unteren Ende des Filters senkrecht nach unten gerichtet ist, dient zur Entleerung des Filters, der ca. 5 Liter Füllraum hat.. Ein kleineres Hähnchen am oberen Punkte des Rückendeckels (auf Fig. 2 sichtbar) dient zur Entlüftung des Filterinnern beim Beginn der Filtration.

Die Filtration kann schon bei geringem Druck von 2 m ($= {}^1/_5$ Atm.) erfolgen, doch ist dabei die Mengenleistung des Apparates sehr gering, und zwar um so geringer, je höher die Viskosität

der zu entkeimenden Flüssigkeit ist. Es sollte zweckmäßigerweise ein Mindestdruck von 10 m Wassersäule (= 1 Atm.) zur Anwendung kommen, doch kann der Druck auch unbeschadet für den Filter und die Güte des Filtrats bis auf 2—2,5 Atm. gesteigert werden. Der Filter ist auf einen Druck von 3 Atm. geprüft.

Am einfachsten und billigsten gestaltet sich das Arbeiten mit dem EK-Filter, wenn natürlicher Falldruck von ca. 10 m Höhe (z. B. von einem Stockwerk aus zu einem darunter liegenden) zur Anwendung kommen kann. Wo dies nicht möglich ist, hat sich die Anwendung eines Druckbehälters bewährt (Fig. 1). Dieser, der in verschiedenen Größen (10—50 Liter Inhalt) geliefert wird, wird zu etwa $^8/_{10}$ mit der unfiltrierten Flüssigkeit gefüllt und mittels 6 Flügelschrauben fest verschlossen. Mit einer Fahrradpumpe kann nun Luftdruck auf die Flüssigkeit gesetzt und diese dadurch durch den EK-Filter getrieben werden. Selbstverständlich kann auch eine vorhandene Preßluftleitung oder eine Kohlensäurebombe angeschlossen werden, was die Arbeit des Filtrierens sehr vereinfacht.

Der Filtrierapparat besteht in allen Teilen aus Messing oder Rotguß; alles ist erst mit bestem englischen Zinn feuerverzinnt und dann noch einmal galvanisch nachverzinnt, um eine vollkommen bleifreie Oberfläche zu erzielen. Versilberung ist, wenn sie gewünscht wird, möglich. Der Druckbehälter ist aus starkem Kupferblech angefertigt; er ist außen blank Kupfer und innen ebenso verzinnt wie der Filtrierapparat.

Die Pressenform des Apparates läßt es zu, bei geringem Mengenbedarf an Filtrat anstatt mit vier EK-Schichten nur mit zweien zu arbeiten. Zu diesem Zwecke wird vorher ein Rahmenpaar herausgenommen. Umgekehrt läßt sich die Filterfläche und damit die Mengenleistung des Filters vergrößern durch Einfügen von weiteren Rahmenpaaren und entsprechend mehr EK-Schichten. Der kleinste Filter dieser Bauart, den die Seitz-Werke liefern, ist ein Apparat für 4 EK-Schichten (reduzierbar auf 2); der größte kann mit 40 EK-Schichten beschickt werden. Dazwischen werden noch Apparate für 8, 12 und 20 EK-Schichten gebaut. Es sei noch besonders hervorgehoben, daß jede EK-Schicht ein selbständiges restlos entkeimendes Filter darstellt. Eine Vermehrung der EK-Schichten bedeutet also nicht, wie oft angenommen wird, eine bessere Entkeimung, sondern nur eine Erhöhung der Mengenleistung.

Ueber die Zusammensetzung und Wirkungsweise der EK-Schichten ist kurz folgendes zu sagen:

Die Zusammensetzung ist Fabrikgeheimnis und durch Patente geschützt; ein wesentlicher Bestandteil ist Asbest, der in besonderer Weise aufbereitet und präpariert ist. Die Wirkungsweise der Schichten ist in der Hauptsache wohl eine mechanische (Siebwirkung), indem die äußerst feinen Filterporen, deren Größe ca. $^1/_{10}$ μ beträgt, wohl die Flüssigkeit, aber nicht die Suspense, deren Größe über dieses Maß hinausgeht, durchlassen. Andererseits ist anzunehmen, daß diese feinporigen Filterscheiben auch bis zu einem gewissen Grade adsorbierend wirken; wobei unter Adsorption die Fähigkeit des Asbestes zu verstehen ist, feste Stoffe auf seiner Oberfläche zu verdichten, während er in seinem Innern unverändert bleibt. — Die Erschöpfung tritt ein, wenn die Kondensation an der Oberfläche ihr Ende erreicht hat. Je größer die Asbestoberfläche ist, desto später wird auch die Erschöpfung

eintreten. — Abhängig ist dieselbe natürlich auch noch von dem Grad der Viskosität der zu filtrierenden Flüssigkeit. Flüssigkeiten mit großer „innerer Reibung" heißen „zähflüssig". Der Grad der Viskosität = Zähflüssigkeit wird ausgedrückt durch den Wert der „Reibungskonstante". — Diese Reibungskonstante oder Koeffizient der inneren Reibung, welche beispielsweise bei Serum höher ist als bei Wasser, bei glyzerinhaltigem Serum wieder höher als bei blankem Serum, ist die in Milligrammgewicht ausgedrückte Zugkraft, mit welcher eine Flüssigkeitsschicht vom Flächenraum 1 qmm auf eine ebenso große in 1 mm Entfernung parallel liegende Schicht beschleunigend wirkt, wenn sie mit der relativen Geschwindigkeit von 1 mm in der Sekunde vorbeibewegt wird.

Die Arbeitsanordnung beim Gebrauch des EK-Filters ist die nachstehende:

Den Filter durch Zurückschrauben der 6 Schraubenröhrchen (bis an das Ende der Schrauben!) öffnen; den Vorderdeckel bis an die Rädchen zurückschieben; den vordersten Filtratrahmen (mit der Oese nach oben) aus dem Filter herausheben; auf jede Seite dieses Rahmens eine Filterschicht in die Haltekrallen einsetzen (die Schichten nur am äußersten Rand und nur mit sauberen Fingern anfassen!!); den Rahmen samt Schichten wieder in den Filter — dicht am Vorderdeckel — einsetzen (Gummidichtung nach vorne!); den anderen Filtratrahmen ebenso beschicken und einsetzen.

An jeden Filtratrahmen gehören also 2 Schichten, so daß bei dem EK-Filter Nr. 30/IV schließlich 4 Schichten in dem Filter sitzen. Jeder Filtratrahmen muß stets zwischen 2 Trübrahmen sitzen, wobei die beiden Filterdeckel als Trübrahmen gelten.

Der richtig zusammengesetzte Filter muß also die bekannte Anordnung aufweisen.

Den Filter durch festes, aber gleichmäßiges Anziehen der Schrauben schließen. (Die Rädchen alle reihum immer nur 2—3 Umdrehungen anziehen, da sonst die Rahmen festklemmen.) Die Rädchen mit dem Schlüssel so fest als möglich anziehen. (Ein Schweißen der Filterschichten an der Klemmkante hat keinen Einfluß auf die Güte des Filtrats.) Das Auslaufrohr an dem Vorderdeckel festschrauben.

Unbedingtes Erfordernis vor Beginn der Filtration ist, daß der Filter an sich keimfrei ist. Dabei ist es nicht nötig, daß der Apparat in toto sterilisiert wird, sondern es genügt, wenn die Teile, die mit dem entkeimten Filtrat in Berührung kommen, sterilisiert werden. Diese Teile sind die aus dem Filter von oben herausnehmbaren Filtratrahmen und das gebogene Auslaufrohr. Die beiden Deckel sowie der nicht von oben herausnehmbare Rahmen nehmen nur Unfiltriertes auf, brauchen daher nicht unbedingt sterilisiert zu werden. Man kann darum so zu Werke gehen, daß man die beiden Filtratrahmen in der vorgeschriebenen Weise mit je zwei EK-Schichten beschickt und Rahmen samt Schichten in strömendem Dampf sterilisiert, wobei das Ganze in Pergamentpapier eingeschlagen ist. Auch das abschraubbare Filtratauslaufrohr kann so sterilisiert werden. Die Verschlußblende des Filterkanals am hinteren Deckel kann durch Abflammen keimfrei gemacht werden. Da, wo gespannter Wasserdampf oder auch nur

strömender Dampf vorhanden ist, ist die Sterilisierung des Filters sehr einfach, indem man den Dampf am Filtereinlauf einleitet und am Auslaufrohr ausströmen läßt. Der Dampf kann z. B. auf einfache Art durch eine Abzweigleitung von dem Autoklav entnommen werden.

Bei Verwendung eines Druckbehälters ist noch zu bemerken, daß derselbe nur bis zu $^4/_5$ mit dem zu filtrierenden Serum gefüllt werden darf. Auf keinen Fall darf die Flüssigkeitssäule bis an das Ventil stehen. Dieses ist ein gewöhnliches Automobilventil. Der Luftdruck kann also mit jeder gewöhnlichen Luftpumpe erzeugt werden. Er soll nicht über 2 Atm. steigen. Das Hähnchen am Deckel des Druckbehälters dient zum Ablassen des Luftdruckes nach Beendigung der Filtration. Am vorteilhaftesten und mit der geringsten Mühewaltung verknüpft ist es, wenn man ein indifferentes Gas (Kohlensäure, Stickstoff, Preßluft usw.) zum Füllen des Druckbehälters benützt, und zwar derart, daß man z. B. die Kohlensäurebombe mit einem guten Automobilluftpumpenschlauch an das Ventil des Druckbehälters anschließt.

Es erscheint geboten, an dieser Stelle auch gleich das Auswechseln der Filterschichten zu erläutern:

Den Filter vor dem Oeffnen völlig entleeren. (Die in dem Filter enthaltene, weiter unten bezüglich der Menge näher bezeichnete Flüssigkeitsmenge darf in Anbetracht ihrer Hochwertigkeit nicht verloren gehen. Sie wird aufgefangen und dem nächsten zu filtrierenden Serum beigegeben oder mit dem kleinen EK-Laboratoriumsfilter fertig entkeimt. Bei der Entleerung muß sowohl Entleerungs- wie Entlüftungshähnchen geöffnet werden.)

Den Filter in umgekehrter Reihenfolge wie bei der Schließung öffnen, den vordersten Filtratrahmen herausnehmen; die beiden Schichten vernichten; den 2. Filtratrahmen herausnehmen und die Schichten ebenfalls vernichten; den Gesamtfilter sofort in kaltem Zustande gründlich reinigen und staubdicht bis zur nächsten Filtration aufbewahren.

Ein besonderes Gewicht ist auf das sofortige und vollständige Vernichten der Filterschichten zu legen. Stellen diese doch Reinkulturen aller möglichen Bakterien dar, welche unter Umständen eine große Gefahr für das Laboratorium, in welchem die Filtration vorgenommen wird, bedeuten. Die Verwendung des EK-Filters bei der Serumfiltration gestaltet sich folgendermaßen:

Zu gleicher Zeit mit dem Filter werden die Versandgefäße, die das Filtrat aufnehmen sollen (Flasche, Ampullen), durch eine Pergamentkappe verschlossen, in strömendem oder gespanntem Dampfe sterilisiert. Da die Versandgefäße eine reichlich verschiedene Höhe haben, muß die Höhe des Abfüllstutzens am Filter leicht verschieblich sein. Dies wird dadurch erreicht, daß man den ganzen Filter an der Wand so aufhängt, daß der Filter in toto in Schienen läuft und, durch ein Gegengewicht gut ausbalanciert, sich spielend auf- und abbewegen läßt. Wenn der Filter erkaltet ist, wird der gefüllte Druckbehälter angeschlossen und unter Druck gesetzt. Vorher hat man eine geeignete Wage vor dem Filter aufgestellt, darauf das Versandgefäß austariert und das Gewicht des aufzunehmenden Filtrates aufgelegt. Sobald man den Hahn am Einlaufstutzen öffnet, fließt das Serum nach Ablauf der Filterpassageanfangszeit am Auslaufrohr, das man dem Gefäß-

hals unmittelbar genähert hat, aus. Den schädlichen Raum am Gefäßhals-Auslaufstutzenende schließt man durch Umlage eines sublimatgetränkten Wattebausches jeweils ab. Es empfiehlt sich, den Hahnen am Einlaufrohr rechtzeitig zu schließen, damit das Serum, sobald die Wage spielt, nur noch tröpfelt und ein Filtratverlust vermieden wird. Auf die Flaschenöffnung wird ein in Sublimat getauchtes Pergamentblättchen gelegt, das mit dem paraffinierten Korkstopfen in den Flaschenhals gedrückt wird. (Vorsicht! Pergament nicht durchstoßen.) Alsdann wird der Flaschenhals umgekehrt in heißes Paraffin getaucht und mit einem zweiten Pergamentblatt, das ebenfalls mit Sublimat getränkt ist, zugebunden und plombiert. — Wie schon eingangs gesagt, waren von vornherein an den EK-Filter vier Hauptanforderungen zu stellen, nämlich genügende Mengenleistung, absolute Entkeimungsleistung, Schonung des Serumtiters und befriedigende Wirtschaftlichkeit.

Mengenleistung des Filters.

Die Mengenleistung des Filters ist abhängig von 3 Komponenten: 1) von der Viskosität des zu entkeimenden Serums, 2) von dem Filterdruck, und 3) von der Schichtenanzahl.

Die Viskosität des zu entkeimenden Serums ist abhängig von den Zusätzen. Sie äußert sich wenig bei Beigabe von homologen eiweißhaltigen Verdünnungsflüssigkeiten, sie sinkt bei Einmischung von Flüssigkeiten geringerer Viskosität, z. B. von Salzlösung; sie steigt beträchtlich bei Zugabe von Glyzerin.

Als Filtrierdruck wurde bei den nachstehenden Versuchen mit dem geringen Druck von 2 m = $^1/_5$ Atm. begonnen, der nach Durchlauf des 7. Liters auf 3 m, nach Durchlauf des 8. Liters auf 4, und nach Durchlauf des 12. Liters auf 5 m = $^1/_2$ Atm. erhöht wurde. Beim Anwenden dieses Druckes zum Filtrieren eines Rohserums, welches als einzigen Zusatz 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung enthielt, waren die Durchlaufsgeschwindigkeiten mit geringen, durch äußere in der Versuchsanordnung liegenden Unterschieden die nachstehenden:

Es passierten den EK-Filter No. 30/IV:

1	l	Rohserum	nach	3	Min.	9	l	Rohserum nach	60 Min.
2	„	„	„	7	„	10	„	„ „	74 „
3	„	„	„	11	„	11	„	„ „	87 „
4	„	„	„	16	„	12	„	„ „	106 „
5	„	„	„	22	„	13	„	„ „	131 „
6	„	„	„	29	„	14	„	„ „	152 „
7	„	„	„	37	„	15	„	„ „	180 „
8	„	„	„	47	„				

Der EK-Filter Nr. 30/IV kann also bei Verwendung eines Filtrierdruckes von $^1/_5$ bis $^1/_2$ Atm. zum Filtrieren eines annähernd nativen Rohpferdeserums nach 3 Std. als erschöpft gelten.

Da die filtrierende Fläche $4 \times 15 \times 15 \times 3{,}14 = 2827$ qcm beträgt, so ergibt sich für den Anfang eine Filtrationsgeschwindigkeit von 7 cm, für die Mitte von 3,2 cm und fürs Ende von 1,7 cm in der Stunde. Die mittlere Filtrationsgeschwindigkeit beträgt rund 4,1 cm in der Stunde. Bei Filtration eines durch Zugabe von Flüssigkeiten geringerer Viskosität verdünnten Rohserums erweist sich der EK-Filter 30/IV erst erschöpft nach Durchlauf von etwa 30 Litern, die den Filter nach $4^1/_2$ Std. passieren. Die Mengenleistung des EK-Filters bei Beschickung mit einem durch Einmischung von 10 Proz. Glyzerin

konservierten und dadurch mit einer erhöhten Viskosität belasteten Rohserums betrug: 16 Liter in 30 Min. bei einem Druck von 20 m = 2 Atm. Es zeigte sich dabei überraschenderweise, daß die erhöhte Viskosität nicht den störenden Einfluß auf die Mengenleistung hat, wie er von vornherein vermutet wurde.

Es interessiert an dieser Stelle noch die Mengenleistung der sog. Seitzschen „Klärschichten" (K-Schichten). Dieselben stellen Asbestfilterplatten dar von dem äußeren Aussehen der EK-Schichten und sind genau wie diese in einer zugeklebten Papierhülle zu je vieren verpackt. Diese Papierhüllen enthalten außer dem Firmenaufdruck die genaue Bezeichnung. So steht auf den Klärschichtenhüllen neben dem Aufdruck Fertige „Klärschichten" (K-Schichten) die Bemerkung: Zur Entkeimung von seuchenverdächtigem Trinkwasser oder anderen bakterienhaltigen Flüssigkeiten eignen sich die K-Schichten nicht! Man verlange für solche Zwecke die Seitzschen EK-Schichten. Aus dieser Fabriknotiz geht, wie es auch unsere Versuche gezeigt haben, hervor. daß die Klärschichten lediglich in Betracht kommen zur vorläufigen Befreiung der zu filtrierenden Flüssigkeit von gröberen Bestandteilen (Entschlammung). — Auf den Papierhüllen der „Entkeimungsschichten" ist außer dem Aufdruck „Entkeimungsschichten" (EK-Schichten) die Notiz vermerkt:

Die Hüllen dürfen erst unmittelbar vor dem Gebrauch der Filterschichten entfernt werden. Die Schichten sollen mit sauberen Fingern und nur am Rande angefaßt werden. Das Ablegen der Schichten auf schmutzige Unterlagen ist strengstens zu vermeiden. Die Schichten sind vorsichtig zu behandeln, damit sie keine Knicke bekommen. Zerknickte Schichten dürfen nicht verwandt werden. Bei der Trinkwasserentkeimung sind die gebrauchten Schichten nach Ablauf einer Woche durch neue zu ersetzen, und zwar auch dann, wenn ihre Durchlässigkeit für Wasser noch nicht erschöpft ist. Bei Seuchengefahr ist es ratsam, jeden zweiten Tag neue Schichten zu verwenden. Bei der Entkeimung von Wein, Serum und ähnlichen Flüssigkeiten muß die Erneuerung der Schichten nach 24 Std. erfolgen.

Gebrauchte Schichten können nicht gereinigt werden. Bei Seuchengefahr sind sie durch Verbrennen oder Vergraben unschädlich zu machen.

Die Mengenleistung der K-Schichten betrug bei Beschickung mit einem durch eine Flüssigkeit geringerer Viskosität (blutisotonische Salzlösungen) verdünnten Rohserum, das notabene mit Glyzerin (hohe Viskosität) konserviert war, 62,5 Liter in 40 Min.

Entkeimungsleistung des Filters.

Um den Grad der Entkeimungsleistung festzustellen, wurden in je 2 Parallelversuchen in Anlehnung an die Vorschriften über die staatliche Prüfung des Rotlaufserums (Anlage zur Viehseuchenpolizeilichen Anordnung des Ministeriums für Landwirtschaft, Domänen und Forsten vom 12. 2. 1919 Nr. I A III g 10052 M. f. L.) aus dem unfiltrierten bzw. geklärten bzw. filtrierten Serum je 5 Tropfen (32 Tropfen = 1 ccm) entnommen und damit je 2 Agarröhrchen, zwei Traubenzuckeragarröhrchen und 2 Bouillonröhrchen beschickt. Die Agarröhrchen wurden in Platten ausgegossen, von den Traubenzuckeragarröhrchen wurden Schüttelkulturen in hoher Schicht angelegt. Nach 24 bzw. 48 Std. wurde die Keimzahl ausgezählt.

Wie aus einigen Versuchsbeispielen in Tabellenform (Tab. I) hervorgeht, ist durch Klärung des trotz vorschriftsmäßig hohen Desinfektionszusätzen außerordentlich keimhaltigen Serums eine Keimfreiheit nicht zu erzielen. Dagegen ist eine hochgradige Entschlam-

mung, d. h. eine Befreiung von schleimigen und korpuskulären Serumbestandteilen zu erreichen, wodurch die bei der nachfolgenden Entkeimung zur Verwendung kommenden EK-Schichten wesentlich entlastet werden, was einerseits eine starke Erhöhung der Mengenleistung bedeutet, und andererseits auch infolge der dadurch bedingten Ausnützungserhöhung der im Vergleich zu den billigen K-Schichten teuren EK-Schichten auch eine Verbilligung des Filtrationsprozesses ausmacht.

Tabelle I.

Versuchs-Nr.	Art des Serums	Keimzahl in 1 ccm			
		vor der Klärung und Entkeimung	nach der Klärung	nach der Entkeimung	nach der Entkeimung
				am 1. Tag	nach 14 Tag.
1	Rohserumreste+10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung	16 640	1 280	0	0
2	Rohserum + 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung	2 496	—	0	0
3	desgl.	4 380	—	0	0
4	„	4 160	—	0	0
5	„	7 976	—	0	0
6	„	960	—	0	0
7	„	675	—	0	0
8	„	3 520	—	0	0
9	„	1 300	—	0	0
10	„	990	—	0	0
11	Rohserum + 0,55 Proz. Karbol + 10 Proz. Glyzerin + 1,5 Proz. salizylsaures Natrium	996	18	0	0

Die Entkeimung des Serums unter Verwendung der EK-Schichten ist sowohl bei vorhergehender Klärung als auch ohne dieselbe eine absolute. — Wie aus einer weiteren Tabelle (Tab. II) hervorgeht, ist der Grad der Entkeimung völlig unabhängig von der Zeit der Probeentnahme, d. h. das Filtrat ist am Anfang der Entkeimung genau so keimfrei wie in der Mitte und am Ende des Filtrationsprozesses. Das Filtrat wurde nach 14 Tagen erneut bakteriologisch untersucht, wobei ebenfalls absolute Keimfreiheit festgestellt werden konnte.

Tabelle II.

Versuchs-No.	Art des Serums	Keimzahl in 1 ccm								
		vor der Entkeimung	Filtrat nach Durchlauf von							
			5 l	7 l	10 l	15 l	5 l	7 l	10 l	15 l
			am 1. Tag				nach 14 Tagen			
1	Rohserumreste + 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung	16 640	0	0	—	—	0	0	—	—
2	Rohserum + 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung	2 496	0	—	0	0	0	—	0	0
3	desgl.	675	0	—	0	0	—	—	0	0
4	Versandserum + 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung	960	—	—	0	0	—	—	0	0
5	Rohserum + 10 Proz. einer 3proz. Metakresollösung (notgeschlachtetes Serumpferd)	4 380	0	—	—	—	0	—	—	—
6	Rohserum + 0,55 Proz. Karbol + 10 Proz. Glyzerin + 1,5 salicylsaures Natrium	996	—	0	—	—	—	—	—	—

In den Traubenzuckeragarröhrchen, welche mit 5 Tropfen von dem unfiltrierten und ungeklärten Rohserum beschickt wurden, waren eine Unmenge Keime gewachsen. Die auf der Agarplatte aufgegangenen Keime erwiesen sich als Streptokokken, Staphylokokken, Diplokoken, Meristen und kurze plumpe Stäbchen, desgleichen die Bouillonkulturen.

Schonung des Serumtiters.

Zur Prüfung der Frage, ob durch den Filtrationsprozeß eine Senkung des Gehalts an Antikörpern auftritt, wurden systematisch Wertbestimmungen vor und nach dem Filtrieren nach der üblichen Methode an weißen Mäusen ausgeführt. Dabei ergab sich, daß der Titer des Serums nicht wesentlich durch den Entkeimungsakt mit dem EK-Filter beeinflußt wird.

Wirtschaftlichkeit des EK-Filters.

Zur Prüfung der Wirtschaftlichkeit des EK-Filters ist die Haltbarkeit des Filterapparates, die Leistung der Filterschichten und der Aufwand an sonstigen Betriebsmitteln kritisch zu würdigen.

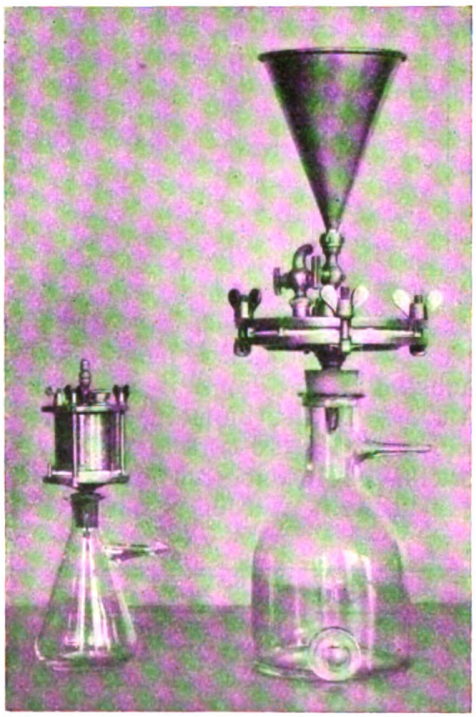


Fig. 3.

Der Rahmenbau des Filters in seinen Metallteilen und der Druckbehälter ist so solide und übersichtlich einfach konstruiert, daß man wohl von einer unbegrenzten Haltbarkeit reden kann. Außer 10 kleinen Gummidichtungen, die gelegentlich zu erneuern sind, ist jegliches Verdichtungsmaterial vermieden, weil die EK- und K-Schichten selbst dichten. Die hohe Leistung der EK- und K-Schichten glaube ich vorstehend bewiesen zu haben. Ihr Preis ist so niedrig gehalten, daß er bei der Preisgestaltung kaum ins Gewicht fällt. — Die Sterilisierkosten sind praktisch ohne Bedeutung. Wenn man von dem m. E. höchst unzweckmäßigen und umständlichen Falldruck absieht, der allerdings gar nichts kosten würde, sind die zum Druck verwendeten indifferenten Gase (Preßluft, Kohlensäure, Stickstoff infolge der niedrigen Dosierung auch ohne jede meßbare Verteuerung.

An dieser Stelle ist noch zu erwähnen, daß es nicht gelingt, die zu entkeimende Flüssigkeit restlos durch den EK-Filter Nr. 30/IV durchzupressen. Infolge der vertikalen Anordnung der Filterpresse bleiben noch etwa 3,5 Liter Flüssigkeit im Filter zurück. Dieser Rest kann aber sehr gut durch die ebenfalls von den Seitz-Werken Kreuznach konstruierten kleinen Laboratoriumsfilter, EK-Laboratoriumsfilter 6/1 und EK-Laboratoriumsfilter 14/I (Fig. 3), bis zum letzten Tropfen durchgepreßt werden.

Der EK-Laboratoriumsfilter Nr. 6/I für kleinste Flüssigkeitsmengen bis zu etwa 100 ccm. Der kleine Apparat arbeitet mit einer EK-Schicht von 6 cm Durchmesser. Sehr geringer Flüssigkeitsverlust. Die EK-Schicht liegt zwischen dem kleinen, flachen Trichterteller und dem zylindrischen Aufgußbehälter. Durch Anziehen der 3 langen Flügelschrauben wird der Filter geschlossen. Der Aufsatzdeckel ist mit einem Fahrradventil versehen, so daß gegebenenfalls mit Hilfe einer Fahrradpumpe Luftdruck bis zu 2 Atm. auf den Filterinhalt gegeben werden kann. Gewöhnlich genügt aber das Absaugen des Filtrats mittels einer Wasserstrahlpumpe.

Der EK-Laboratoriumsfilter Nr. 14/I. Für Mengen von etwa 1—2 Liter. Dieser Filter arbeitet mit einer EK-Schicht von 14 cm Durchmesser; dieselbe liegt zwischen dem flachen, trichterförmigen Unterteil und dem flachen Deckel. Durch Anziehen von vier Flügelschrauben wird der Filter geschlossen. Der Deckel ist mit einem abschraubbaren Fülltrichter versehen. Betrieb mittels der Wasserstrahlpumpe (Fig. III).

Beide kleinen Filter wurden nach den obigen Gesichtspunkten der vorstehenden Arbeit geprüft und als einwandfrei arbeitend befunden. Beide erhöhen in ihrer Ergänzung des großen Filters die Wirtschaftlichkeit.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

Die an ein Serumentkeimungsfilter zu stellenden 4 Anforderungen: unbedingte Keimsicherheit, genügende Mengenleistung, Schonung des Serumtiters und befriedigende Wirtschaftlichkeit, werden durch den Seitzschen EK-Filter voll erfüllt. — Die Keimsicherheit ist selbst bei weitgehendster Ausnützung der Filterschichten eine absolute. — Die Mengenleistung ist bei der hohen Viskosität des Rohserums eine mit keinem anderen Filter zu erreichende und kann infolge der Filterpressenform durch Einsatz einer beliebigen Anzahl von Entkeimungsschichten beliebig gesteigert werden, so daß die Seitzschen EK-Filter im Laboratorium gleich wie in größerem Fabrikbetrieb verwendbar sind. — Die Schonung des Serumtiters ist durch laufende Kontrollversuche erwiesen. — Die Wirtschaftlichkeit ist ohne weiteres durch den unverwüstlichen Bau der Filterpresse, das Fehlen größeren Dichtungsmaterials und den geringen Preis der Filterschichten garantiert.

Die günstigen Erfahrungen, welche mit den Seitzschen Entkeimungsfiltern bei der Entkeimung von Rotlaufserum zu verzeichnen sind, lassen eine weitgehende Verwendung derselben im Interesse der Serumhygiene wünschenswert erscheinen, und zwar zur Entkeimung aller herzustellenden Sera.

Literaturverzeichnis.

1) Ficker, Zur bakteriologischen Wasseruntersuchung. I. Mittlg. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. S. 147.) — 2) Friedberg, E., u. Pfeiffer, R., Lehrbuch der Mikrobiologie. — 3) Heim, L., Ueber Asbestfilter. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Beil. 1906. S. 52. — 4) Ders., Lehrbuch der Bakteriologie, mit besonderer

Berücksichtigung der Untersuchungsmethoden. 5. Aufl. Stuttgart 1918. — 5) Hesse, W., Ueber Asbestfilter. (Dtsch. med. Woch. 1885. S. 71.) — 6) Ders., Weitere Studien über den Bakteriennachweis mit dem Berkefeldfilter (Ztschr. f. Hyg. Bd. 70. 1911. S. 311.) — 7) Ders., Das Berkefeldfilter zum Nachweis von Bakterien im Wasser. (Ebenda. Bd. 69. 1911. S. 522.) — 8) Ders., Die bakteriologische Wasseruntersuchung mit Hilfe des Armee-Berkefeldfilters. (Dtsch. militärärztl. Ztschr. 1912. S. 241.) — 9) Hilgermann, B., Untersuchungen über die Leistungsfähigkeit des Sucrofilters. (Gesundheitsingen. 1911. S. 188.) — 10) Kißkalt, K., Untersuchungen über Trinkwasserfiltration. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 80. S. 57; Bd. 83. S. 509.) — 11) Ders., Praktikum der Bakteriologie und Protozoologie. 5. Aufl. — 12) Kister, J., Das Seitzsche Wasserentkeimungsfilter. (Ges.-Ingen. Bd. 18. S. 17.) — 13) Kitt, Th., Bakterienkunde u. path. Mikroskopie. — 14) Klimmer, M., Technik u. Methodik der Bakteriologie u. Serologie. — 15) Müller, A., Ein neues Verfahren zum Nachweis spezifischer Bakterien in größeren Wassermengen. (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt. Bd. 47. 1914. S. 513.) — 16) Oettinger, Die bakteriologische Kontrolle von Sandfilteranlagen. (Ztschr. f. Hyg. Bd. 71. 1912. S. 1.) — 17) Otto, R., u. Hetsch, H., Die staatl. Prüfung der Heilsera u. des Tuberkulins. — 18) Plagge, Untersuchungen über Wasserfilter. (Veröffentl. a. d. Gebiet d. Militär-Sanitätswes. H. 9. 1895.) — 19) Schätzlein, Chr., Seitzscher Entkeimungsfilter zur Entkeimung bakterienkranker Weine. (Mitteil. d. chem. Abt. d. Weinbauversuchsanst. Neustadt a. d. H.) — 20) Spitta, O., Weitere Untersuchungen über Wasserfilter. (Arb. a. d. Reichsgesdh.-Amt. Bd. 50. I. 1919. H. 3.) — 21) Ders., ebenda. Beleg 50. S. 263. — 22) Min. f. Landw., Domänen u. Forsten, Viehseuchenpolizeiliche Anordnung des Min. f. Landw., Domänen u. Forsten. — 23) Wüllführ, Ueber den Bakteriennachweis im Wasser mit dem Berkefeldfilter nach Hesse. (Mitteil. d. Landesanst. f. Wasserhyg. Bd. 18. 1914. S. 33.) — 24) Kramer, O., Untersuchungen über den Seitzschen Entkeimungsfilter. (Allgem. Weinzeitg. Wien 1923. Nr. 31; 1924. Nr. 1.) — 25) Rotte, W., Zur Frage der Weinentkeimung auf kaltem Wege. (Mitt. Nr. 63 d. Bad. Weinbauinstit. i. Freiburg i. B. (Weinbau u. Kellerwirtschaft. 1923. Nr. 8.)

Inhalt.

Beniasch, M., u. **Lerner, D.,** Methode der beschleunigten Ausflockungsreaktion bei Syphilis, S. 352.

Isabolinsky, M., u. **Gitowitsch, W.,** Ueber die Bruck sche Syphilisreaktion, S. 359.

Karmaun, P., Die Agglutination mit dem Tuberkulose-Diagnostikum nach Fornet zur Erkennung der Rindertuberkulose, S. 368.

Lipschütz, B., „Herpetischer Zoster"? Kerneinschluß oder Kerndegeneration? S. 361.

Manninger, R., Zur Diagnostik der Paratyphusbazillen der Hogcoleragruppe, S. 371.

Minervin, S., Eine Selektionsmethode für den Choleravibrio, S. 334.

Ogata, Norio, Zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen, S. 329.

Speyer, Ernst, Ueber die Wirkung verschiedener Wasserstoffionen-Konzentrationen auf das Wachstum des Coli-Bazillus in künstlichen Nährböden, S. 340.

Tron, Wilhelm, Die Verwendung des Seitzschen Entkeimungsfilters zur Entkeimung von Rotlaufserum, S. 380.

Vogel, R., Dermacentor reticulatus F. in Württemberg, S. 380.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5267.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 93. Heft 6.

Ausgegeben am 5. Dezember 1924.

Nachdruck verboten.

Das Ektoplasma der Bakterien.

[Aus der Parasitologischen und Vergleichend-pathologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin (Direktor: Geheimrat Lubarsch).]

I. Mitteilung: Ueber eine allgemeine Methode zur Darstellung des Ektoplasmas der grampositiven Bakterien[1]).

Von Dr. med. **M. Gutstein**, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Daß jedes Lebewesen und auch die Bakterien eine äußere Membran oder Hülle besitzen müssen, kann wohl schon aus rein theoretischen Gründen kaum bestritten werden. Ebenso wie wir an jedem größeren makroskopisch sichtbaren Organismus eine Oberhaut oder Epidermis kennen, müssen wir auch bei den kleinsten, nur mikroskopisch sichtbaren Bakterien die Existenz einer solchen äußeren Schutzhülle voraussetzen. Ohne solche äußere Membran wäre die Tatsache nicht erklärlich, daß die Mikroben gegen ungünstige äußere Einflüsse der Umgebung und des Mediums (Temperatur, Licht, hypertonische Lösungen) in gewissen Grenzen sich schützen können. Einer äußeren Zellhaut bedarf das Bakterium auch zum Schutz gegen Verletzung seines Leibes und gegen Veränderungen seiner äußeren Form. Auch die elektive Aufnahme bestimmter zu seinem Stoff- und Kraftwechsel notwendigen Nährstoffe und vielleicht auch die Regelung des Gaswechsels läßt sich nur durch das Vorhandensein einer äußeren Membran erklären.

Ist danach die Existenz einer Hülle bei den Bakterien ziemlich wahrscheinlich, so ist bislang deren sicherer Nachweis nicht restlos gelungen. Bezeichnend hierfür ist die Tatsache, was Gotschlich im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen (Abschnitt: Allgemeine Morphologie und Biologie) von Kolle-Wassermann dem Thema Ektoplasma im ganzen nur eine Seite widmet. Nach Gotschlich (1) soll bei der Färbung der Bakterien nach der Methode von Nakanishi die Membran stärker als der Leib gefärbt erscheinen. Denselben Befund erhält man übrigens, wie ich nebenbei bemerken will, auch, wenn man die Bakterienausstriche mit Karbolfuchsin färbt. Doch ist hierbei eine schärfere Trennung des Ektoplasmas vom Zelleib nicht möglich. Bei Untersuchung lebender Bakterien im Ultramikroskop hab man ebenfalls auf das Vorhandensein einer Zellhaut daraus geschlossen, daß ein hell aufleuchtender Saum um das optisch leere Zellinnere scharf abgegrenzt erschien (2). Aber abgesehen davon, daß diese Methode nur auf lebende Bakterien anwendbar ist, konnte hieraus der sichere Nachweis der Zellhaut nicht als erbracht bezeichnet werden: Die Möglichkeit einer

1) Kurz vorgetragen auf dem Kongreß der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie 12.—14. Juni 1924.

optischen Interferenzerscheinung konnte nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden. Ist doch selbst die Existenz der von vielen Autoren bei mancher Bakterien nachgewiesenen Kapsel von Foth (3), Küstenberg (3) und in einer jüngst erschienenen Arbeit von Plasaj (4) bestritten worden, mit der Begründung, daß die Kapsel (z. B. des Milzbrandbazillus) im Dunkelfeld nicht auffindbar sei. Von diesen Autoren wird die Kapsel als artifizielles Quellungsprodukt, beim Austrocknen der Bakterienausstriche entstanden, oder als optische Täuschung hingestellt. Einwandfrei erscheint der Nachweis der Zellenmembran durch die sogen. Vitalfärbung erbracht zu sein. Bringt man z. B. lebende Milzbrandbakterien in einer verdünnten Fuchsinlösung auf einen Objektträger und mikroskopiert, so imponiert zunächst eine Rotfärbung der äußeren Hülle, doch verschwindet diese schnell, sobald der Zelleib die Farbe angenommen hat, was meist innerhalb weniger Minuten zu erfolgen pflegt.

Leider ist auch diese Methode nur auf lebende Bakterien anwendbar und gestattet außerdem nicht die Herstellung von Dauerpräparaten. „Die Zellmembran der Bakterien ist in der Regel weder mit noch ohne Färbung deutlich zu sehen, nur an größeren Bazillen (Milzbrand) ist im hängenden Tropfen wenigstens eine Andeutung einer dünnen Membran zu erkennen". (K. B. Lehmann und R. O. Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie, Teil II. S. 4.)

Als erster scheint Zettnow (5) die Zellmembran bei einzelnen großen Mikroben, die eine breite Außenschicht besitzen, nachgewiesen zu haben. Von diesen stammt wohl auch, soweit ich die Literatur übersehe, der Ausdruck „Ektoplasma" — im Gegensatz zum Endoplasma — für die Zellmembran. Schaudinn (5) hat ferner bei dem ziemlich großen Bacterium Bütschli eine doppelt konturierte Zellmembran als Grenzschicht beobachtet, „die nach außen hin in die ektoplasmatische Hülle übergeht". Auch Kruse (6) hat aus dem Vorkommen sogenannter Schatten in absterbenden Kulturen auf das Vorhandensein einer Membran geschlossen. Beim Altern der grampositiven Bakterien ist die distinkte Darstellung der Membran später mehreren Autoren gelungen, und zwar durch Versilberung nach vorausgegangener Beizung mit Antimon-Tannin [Zettnow, Heim (7)] oder Färbung mit basischen oder sauren Farbstoffen (Eisenberg). Ebenso hat Grimme (8) bei alten Kulturen von Bact. cohaerens mit Hilfe der Gramschen Färbung durch Nachbehandeln mit verdünnter Fuchsinlösung das Ektoplasma in roter Farbe dargestellt.

Ph. Eisenberg (9) hat als erster 2 Methoden angegeben, mit deren Hilfe das Ektoplasma der grampositiven Bakterien isoliert sich färben läßt. Die 1. besteht in einer Modifikation der Claudiusschen Methode (Ersatz für die Gramsche Färbung): Vorfärbung mit Methylviolett, Behandlung mit konzentrierter wässeriger Pikrinsäurelösung und Differenzieren in Chloroform. Nach der 2. Eisenbergschen Methode wird mit einer methylalkoholischen Lösung von Aurantia vorgefärbt und mit Methylviolett nachgefärbt. Bei beiden Methoden erscheint das Ektoplasma isoliert violett gefärbt. Die Darstellung soll nach Eisenberg auf der Entstehung einer schwerlöslichen Verbindung des sauren Aurantia mit dem basischen Farbstoff Methylviolett beruhen.

Der Nachteil der Eisenbergschen Methoden besteht darin, daß sie nur das Ektoplasma färben und außerdem eine Kombination mit

anderen Methoden zwecks Darstellung einzelner Endoplasmabestandteile ausschließt.

Im folgenden will ich über eine allgemeine Methode berichten, welche die Färbung des Ektoplasmas der grampositiven Bakterien mit fast allen basischen Farbstoffen gestattet. Der Vorzug dieser Methode besteht außerdem darin, daß sie nicht nur die Hülle isoliert zu färben gestattet, sondern auch eine Kombination mit der Darstellung des Zellleibs in einer beliebigen Kontrastfarbe ermöglicht. Die Methode besteht kurz gesagt darin, daß die Bakterienausstriche einige Minuten mit einer verdünnten Tanninlösung bei gewöhnlicher Temperatur behandelt werden. Läßt man darauf einen basischen Farbstoff einwirken, so färbt sich nur das Ektoplasma. Die Darstellung der Zellmembran beruht anscheinend darauf, daß die Bakterienhülle durch die vorausgegangene Tanninbehandlung derartig verändert wird, daß der nachfolgende basische Farbstoff in den Zelleib offenbar nicht eindringen kann.

Die Veränderung des Ektoplasmas durch Tannin läßt sich durch den folgenden einfachen Versuch klar veranschaulichen: Uebergießt man ein 4—6fach gefaltetes Stück gewöhnlichen Filtrierpapiers mit einer 1proz. Malachitgrün-Lösung, so dringt der Farbstoff bis auf die letzte Schicht durch, und sämtliche Schichten erscheinen dunkelblaugrün gefärbt. Uebergießt man dagegen die oberste Schicht desselben gefalteten Filtrierpapiers mit einer verdünnten Tanninlösung und läßt darauf die Malachitgrünlösung einwirken, so dringt der Farbstoff höchstens bis zur 2., 3. Schicht durch. Die obersten Blätter nehmen im Gegensatz zu dem nicht vorbehandelten Filtrierpapier eine hellere, giftgrüne Farbe an. Dieselbe Farbennuance erhält man auch, wenn man im Reagenzglas eine Tannin- mit einer Malachitgrünlösung zusammenbringt: es entsteht dabei ein giftgrüner Niederschlag des in Wasser schwer löslichen Malachitgrüntannats. Verwendet man bei obigem Versuch statt des gewöhnlichen Filtrierpapiers eine festere und weniger durchlässige weiße Papiersorte, so tritt die Wirkung des Tannins noch eklatanter hervor: Das Malachitgrün färbt in diesem Falle nur die oberste Schicht in giftgrüner Farbe, während es alle Papierschichten des nicht vorbehandelten Präparates blaugrün anfärbt.

Zur Darstellung der Bakterienmembran eignen sich (soweit untersucht) alle basischen Farbstoffe, dagegen färben die sauren Farbstoffe das Ektoplasma auch nach Tanninbehandlung im allgemeinen nicht an. Bei einer größeren Versuchsreihe mit Staphylococcus-, Coli- und Hefeausstrichen haben sich insbesondere Methylenblau, Neumethylenblau GG, Azur II, Thionin, Malachit-, Brillant- und Jodgrün, Safranin, Pyronin, Neutralrot, Fuchsin sowie Gentianaviolett und Methylviolett-Farbstoffe (wir verwandten Methylviolett-N-blau (Agfa), das aus einem Gemisch (Tetra-Penta-Hexa) methylierter Pararosaniline besteht) als sehr geeignet erwiesen. Dagegen färben zwar Methylenblau, Rhodulinviolett, Neutralviolett extra das Ektoplasma ebenfalls isoliert und distinkt; doch ist die Färbung nicht so intensiv und kräftig wie die der zuerst genannten Farbstoffe.

Es liegt der Gedanke nahe, daß die Färbung der Zellmembran mit basischen Farbstoffen nach dieser Methode auf einer Tripelverbindung Ektoplasma—Tannin—basischer Farbstoff beruhen könnte, insbesondere nachdem Unna (10) solche Verbindungen bei der Darstellung des „Kollagens' und der sauren Kerne mittels Tannin nachgewiesen hat. Doch sind für diese Annahme bisher noch keine genügenden Beweise vorhanden, so daß diese Frage vorläufig unentschieden bleiben muß. So viel aber erscheint sicher, daß das saure Tannin mit dem darauf folgenden basischen Farbstoff eine in Wasser schwer lösliche Verbindung gibt. Insbesondere läßt sich dies am Verhalten des Malachitgrüns beweisen, das die Bakterienausstriche nach vorausgeschickter Tanninbehandlung in hellgrüner Farbe erscheinen läßt (Malachitgrüntannat), während dieser Farbstoff ohne Tannin dieselben in einer dunkleren Nuance, nämlich blaugrün färbt.

Da eine sehr große Zahl von basischen Farbstoffen in den verschie-

densten Farben und Nuancen zur Färbung des Ektoplasmas zur Verfügung steht, so gestattet die Tanninmethode, sehr elegante und kontrastreiche Bilder der Bakterien herzustellen, insbesondere da sie den Vorzug besitzt, sich mit jedem anderen Verfahren zur Färbung des ganzen Zelleibs, bzw. einzelner Bestandteile, kombinieren zu lassen, wenigstens soweit die vorausgegangene Färbung durch Tannin nicht ausgelöscht wird. Färbt man das Ektoplasma isoliert, z. B. mit Tannin-Methylviolett, so zeigen die Kokken einen kreisförmigen violetten Ring, während das Zellinnere farblos erscheint. Man könnte nun mit Recht die Frage aufwerfen, weshalb bei der Tanninmethode nur ein kreisförmiger Ring der Kokken gefärbt erscheint, während doch das Ektoplasma den ganzen Zelleib umgeben muß. Die Erklärung liegt meines Erachtens darin, daß bei einer bestimmten Stellung der Mikrometerschraube nur die Ebene der peripheren kreisförmigen Begrenzungslinie der Kugelbakterien eingestellt ist, und daher nur ein gefärbter Ring sichtbar wird, während der in einer anderen Ebene liegende Rest (Halbkugel) der Kokken nicht zu sehen ist. Ist diese Erklärung zutreffend, so müßte es möglich sein, durch veränderte Einstellung des Mikroskopes einen anderen Teil der Kugelbakterien sichtbar zu machen. Das ist in der Tat der Fall: Stellt man das ringförmige Ektoplasma der Kokken im Mikroskop ein und verändert sodann die Stellung der Mikrometerschraube, durch Drehung nach links oder rechts, so erblickt man einen kleineren total gefärbten Kreis, der kleiner ist als der jetzt verschwundene Ektoplasmaring, und der der oberen Kalotte des Coccus entsprechen dürfte.

Technik.

Zur Darstellung des Ektoplasmas sind besonders Objektträgerausstriche von Plattenkulturen geeignet, während flüssige Kulturen an Uebersichtlichkeit etwas verlieren, da die Tanninmethode die hier reichlich vorhandene Grundsubstanz (zwischen den Mikroben) mitfärbt. Die Ausstriche werden in der üblichen Weise durch Hitze fixiert. Es gelingt aber, das Ektoplasma viel breiter darzustellen, wenn man die Ausstriche in einer gesättigten Lösung von Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat fixiert. Mit dieser Fixationsmethode kann man z. B. an Milzbrandkulturen ein ziemlich breites Ektoplasma färben, das durchaus den Eindruck einer Kapsel macht. Die Ausstriche werden mit einer 5proz. Tanninlösung 2 Min. lang behandelt und dann gründlich mit Wasser abgespült. Die basischen Farbstoffe werden in einer 1proz. wässerigen Lösung verwandt. Die Färbungsdauer beträgt 5 Sek. bis 1 Min., je nach der Intensität des angewandten Farbstoffes. Falls das Endoplasma oder einzelne Bestandteile davon gefärbt werden sollen, so werden zuerst diese durch geeignete Methoden dargestellt, dann mit Tannin gebeizt: der nunmehr zur Verwendung gelangende basische Farbstoff muß natürlicherweise einen hinreichenden Kontrast zur Farbe des Endoplasmas bilden. Sehr wichtig ist die Tatsache, daß die Färbung des Ektoplasmas bei gewöhnlicher Temperatur vorgenommen werden muß. Erwärmt man die Farblösung, so färbt sich neben dem Ektoplasma auch der Zelleib, weil das Tannin in der Wärme löslich ist upd daher durchgängig geworden ist.

Bevor ich auf die bei den verschiedenen Bakterien mit der Tanninmethode darstellbaren Bilder eingehe, muß ich etwas ausführlicher auf den mikrochemischen Nachweis der freien Nukleinsäure des Zelleibes eingehen. Wie Schumacher (11) zuerst und einwandfrei nachgewiesen hat, wird durch die Methylenblau-Phosphin-Methode (M+P-Methode die freie Nukleinsäure grün, die Nukleoproteide gelb gefärbt. Diese Methode ist von besonderer Beweiskraft, da das Phosphin die durch den zuerst angewandten Farbstoff (Methylenblau) blaugefärbte Nukleinsäure in eine komplexe grüne Verbindung überführt. Die Schumachersche Nukleinsäurereaktion ist von unschätzbarem Wert und

gibt bei größeren Bakterien (z. B. der Hefe) vorzügliche Resultate. Dagegen versagt sie oft bei kleineren Mikroben, wo der gelbe Zelleib häufig die kleinen grünen Granula verdeckt.

Einen schärferen mikrochemischen Nachweis der Nukleinsäure gestattet ein Verfahren, nach dem die Bakterienausstriche mit Karbolmethylenblau gefärbt und mit 5proz. Essigsäure differenziert werden. Bei dieser Methode werden die Nukleoproteide entfärbt, während die freie Nukleinsäure blaugefärbt erscheint. Nach noch nicht veröffentlichten Untersuchungen von Schumacher und mir ist das Volutin von A. Meyer identisch mit freier Nukleinsäure. An Stelle der von A. Meyer zur Differenzierung verwandten 1proz. Schwefelsäure gibt Essigsäure in 5proz. Lösung nach diesen Untersuchungen bessere und vor allem sichere Resultate. Mit Hilfe dieser Karbolmethylenblau-Essigsäure-Methode läßt sich z. B. beim Pneumococcus ein aus freier Nukleinsäure bestehendes Granulum nachweisen, insbesondere erhält man durch Kombination mit Tannin-Safranin ein ziemlich kontrastreiches Bild.

Einen noch empfindlicheren Nachweis der Nukleinsäure gestattet, wie ich gefunden habe, die Karbolfuchsin-Essigsäure-Methode. In Verbindung mit einer blauen Färbung des Ektoplasmas erhält man ein sehr kontrastreiches Bild. Mit dieser Methode kann man z. B. auch beim Staphylo- und Streptococcus sowie Tetragenus einwandfrei ein rotes Granulum als Kern nachweisen.

Ich werde nunmehr die einzelnen Bilder beschreiben, die die Tanninmethode in Verbindung mit anderen Verfahren, welche das Endoplasma darstellen, bei den verschiedenen Bakterien liefert. Um die Färbetechnik nicht jedesmal wiederholen zu müssen, empfehlen sich folgende Abkürzungen F = Fuchsin 1proz., M = Methylenblau 1proz., S = Safranin 1proz., etc. T = Tannin 5proz., Ess. = Essigsäure 5proz. Die hinter diesen Buchstaben in einer Klammer befindlichen Zahlen geben die Färbungsdauer an.

Diphtheriebazillus.

Tannin-Safranin T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) liefert eine isolierte Färbung des Ektoplasmas in roter Farbe (Fig. 1a.) während der Bakterienleib ungefärbt bzw. sehr schwach rosa gefärbt erscheint. Bemerkenswert ist, daß die Bakterien bei dieser Methode viel länger erscheinen als beispielsweise bei Färbung mit Loefflers Methylenblau. Sie zeigen an den Enden eine stärker verdickte Membran und lassen sehr schön rote Teilungslinien erkennen, an denen zwei oder mehrere Stäbchen noch zusammenhängen.

Tannin-Methylviolet T (2′) Mv (5—10″) liefert ebenso ein sehr schmales und violett gefärbtes Ektoplasma. Die Teilungslinien treten hierbei nicht so deutlich hervor.

Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin cM (2—5′) T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) färbt den Leib in blauer, die Membran- und Teilungslinien in roter Farbe (Fig. 2b). Ein noch stärker und intensiver gefärbtes Ektoplasma gibt die Methode cM (2—5′) T (2′) F ($^1/_4$—$^1/_2$′).

Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau cF (2′) Ess ($^1/_2$—1′) T (2′) M ($^1/_4$′) stellt ein blaues Ektoplasma, einen wenig gefärbten Leib und rote Granula dar (Fig. 1c).

Technik.

Die fixierten Ausstriche werden 2 Min. in der Kälte mit Ziehlscher Lösung gefärbt, mit Wasser abgespült, dann mit 5proz. Essigsäure (Ac. ac. glaciale 5, H_2O, ad 100) so lange differenziert, bis der Bakterienausstrich eine hellrosa Farbe angenommen hat, nochmals mit Wasser abgespült, mit Tannin (5proz.) 2 Min. lang behandelt, abgespült und mit Methylenblau $^1/_4$ Min. gefärbt.

Die roten Granula entsprechen den bekannten Polkörnern, die nach Schumacher freie Nukleinsäure enthalten (12). Daß die Karbolfuchsin-Essigsäure-Methode freie Nukleinsäure darstellt, lehren folgende Lösungsversuche mit den von Schumacher als spezifische Lösungsmittel für freie Nukleinsäure angegebenen Reagentien (13):

1. Kocht man die Ausstriche 2 Minuten lang mit destill. Wasser, so sind die roten Granula nicht mehr darstellbar.
2. Behandelt man die Ausstriche 24 Std. mit einer 2proz. Lösung von Ferrocyankalium + Essigsäure, die ja Eiweiß fällt, so sind die Granula ebenfalls verschwunden.
3. Behandelt man die Ausstriche mit 2proz. Natr. acet., so stellt die Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau-Methode nur ein blaues Ektoplasma dar.
4. Bei Behandlung der Ausstriche mit Quecksilberjodidjodkalium erhält man dasselbe Resultat.
5. Extraktion mit Alkohol-Aether läßt die Granula nicht verschwinden.

Staphylo- und Streptokokken.

Tannin-Malachitgrün T (2′) Mal ($^1/_4$—$^1/_2$′) stellt einen grünen Ring und ein helles Zentrum dar (Fig. 2a) Tannin-Azur II T (2′) Az ($^1/_2$′) gibt ebenso einen blauen Ring.

Karbolmethylenblau-Tannin-Fuchsin cM (2—5′) T (2′) F ($^1/_4$′) zeigt einen blauen Leib, der von einem roten Rand umgeben ist. (Fig. 2b).

Ein umgekehrtes Bild erhält man mit:

Karbolfuchsin-Tannin-Methylenblau cF (2′) T (2′) M ($^1/_4$—$^1/_2$′): roter Leib, blaues Ektoplasma (Fig. 2c).

Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau cF (2′) Ess (1—3′) M ($^1/_4$—$^1/_2$′) stellt ein kleines rotes Granulum dar, das nicht den ganzen Zelleib einnimmt, und ein blaues Ektoplasma (Fig. 2d).

Pneumococcus.

Tannin-Methylviolett T (2′) M,v (10′) färbt das Ektoplasma in prachtvoller violetter Farbe, während der Zelleib fast ungefärbt ist (Fg. 3a).

Karbolbrillantgrün-Tannin-Fuchsin cBg (2—5′) T (2′) F ($^1/_2$′) liefert ein schönes zweifarbiges Bild: blaugrüner Leib, roter Rand. Die Doppelkokken hängen an der Berührungsstelle durch ein gemeinsames Ektoplasma zusammen (Fig. 2b).

Beim Pneumococcus läßt sich ein Granulum, das freie Nukleinsäure enthält, nachweisen. Manche Kokken enthalten im Zentrum 2 kleinere Granula, so daß man den Eindruck gewinnt, daß der Teilung eines Jndividuums in einen Doppelcoccus eine Teilung des Granulums vorausgeht.

Karbolmethylenblau-Essigsäure-Tannin-Safranin cM (2′) Ess ($^1/_4$ bis $^1/_2$′) T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) stellt ein blaues Granulum bzw. Doppelgranulum dar und einen rosa Rand, während der Zelleib kaum gefärbt ist. In ähnlicher Weise erhält man durch. (Fig. 3c.)

Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau cF (2′) Ess (1—3′) T (2′) M ($^1/_4$′) ein sehr kontrastreiches Bild: Rote Granula, blauer Rand und einen ungefärbten bzw. wenig gefärbten Leib. (Fig. 3e).

Unter Verwendung der Schumacherschen Nukleinsäurereaktion (M+P) erhält man ein Dreifarbenbild des Pneumococcus.

Karbolmethylenblau-Phosphin-Tannin-Safranin cM (2—3′) Ph (1 bis $1^1/_2$′) T (2′) S (10—15″): Grüne Granula, gelber Leib, rötliches Ektoplasma. Die Technik dieser letzteren Methode ist etwas schwierig, da häufig das kleine grüne Granulum vom gelben Leib verdeckt wird. Sie gelingt aber besonders bei größeren Exemplaren. Wichtig ist dabei nur eine sehr gute Optik und eine genügend starke Lichtquelle. (Fig. 3d).

Hefe.

Die stark grampositive Hefe besitzt ein verhältnismäßig sehr breites Ektoplasma. Die Tannin-Methode liefert hier wegen der Größe der Zellen sehr klare Bilder. Da die Hülle die ganze Zelle umgibt, so stellt die Tanninmethode eine stark gefärbte Membran und einen schwächer gefärbten Zelleib dar. Färbt man das Endoplasma mit einem dunklen basischen Farbstoff, z. B. Methylenblau, beizt mit Tannin und färbt mit einem hellen nach, z. B. Safranin, so erhält man ein sehr schönes Zweifarbenbild: blauen Leib und roten Rand, indem die über dem Zelleib befindliche Hülle vom dunklen Blau bedeckt ist. Färbt man dagegen mit einem hellen basischen Farbstoff vor, z. B. Phosphin, und nach Tanninbehandlung, mit einem dunklen nach z. B. Methylviolett, so erscheint der äußere Rand dunkelviolett, während das Zentrum einen gelben Grund erkennen läßt, der von einem leichten Violett überdeckt ist. Bemerkenswert ist bei der Hefe die Tatsache, daß die Sporenkapsel dieselbe Farbe wie das Ektoplasma annimmt. Falls die Sporen hier ebenfalls gefärbt werden sollen, muß bekanntlich mit einer Karbolfarbstofflösung heiß gefärbt werden. Bei der verhältnismäßig großen Hefezelle sind zahlreiche Kombinationen möglich; ich führe aber nur die folgenden an:

Tannin-Safranin T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) färbt das Ektoplasma und Sporenkapsel rot (Fig. 4a).

Karbolbrillantgrün-Tannin-Safranin cBg (3′) T (2′) S ($^1/_2$′) stellt die Sporen in hellgrüner, den Zelleib in blaugrüner, Sporenkapsel und Ektoplasma in rötlicher Farbe dar (Fig. 4b). Desgl. liefern cM (3′) T (2′) S ($^1/_2$′) oder cF (2′) T (2′) M ($^1/_2$′) schöne Bilder: Blaue bzw. rote Sporen und Leib, rotes bzw. blaues Ektoplasma und Kapsel.

Will man die Sporen und den Zelleib in verschiedenen Farben darstellen, so färbt man mit einer Karbolfarbstofflösung heiß vor, differenziert in Essigsäure bis zur Entfärbung des Ausstriches, färbt mit einer wässerigen Lösung eines zweiten basischen Farbstoffes kalt nach, beizt mit Tannin und färbt endlich mit einem dritten basischen Farbstoff Ektoplasma und Sporenkapsel. So liefert z. B.

Karbolmethylviolett-Essigsäure-Brillantgrün-Tannin-Safranin cMv (1′) Ess (5′) Bg (3′) T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) ein Dreifarbenbild der Hefe: Sporen violett, Leib blaugrün, Kapsel und Ektoplasma rot. Fig. 4c.

Im einzelnen bemerke ich zu dieser Methode noch folgendes: Das Karbolmethylviolett haftet sehr fest an den Hefezellen; man muß deshalb manchmal etwas länger mit Essigsäure differenzieren, eventuell mit Alkohol nachbehandeln, bis der Ausstrich einen schwachvioletten Ton angenommen hat.

Auch hierbei sind noch andere Kombinationen möglich, z. B. Karbolfuchsin-Essigsäure-Methylenblau-Tannin-Rhodulinviolett cF (2′) Ess (1

bis 3′) M (2′) T (2′) Rv ($^1/_2$′): Rote Sporen, blauer Leib, purpurnes Ektoplasma und Kapsel. (Rhodulinviolett [Bayer] ist ein Benzosafraninfarbstoff). Unter Verwendung der Schumacherschen Nukleinsäurereaktion (M+P-Methode) läßt sich ein Vierfarbenbild der Hefe konstruieren:

Karbolmethylviolett-Essigsäure-Methylenblau-Phosphin-Tannin-Safranin cMv (2′) Ess (5′) M (2′) Ph 1—$1^1/_2$′) T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′) liefert violette Sporen, gelben Leib, grüne Nukleinsäuregranula Ektoplasma und Kapsel rot. (Fig. 5.) Auch beim Vierfarbenbild der Hefe sind andere Farbenkombinationen möglich. Sehr einfach ist z. B. Karbolmethylenblau-Phosphin-Tannin-Safranin cM (2′) Ph 1—$^1/_2$′) T (2′) S ($^1/_4$—$^1/_2$′): Blaue Sporen, grüne Nukleinsäuregranula, gelber Leib, rotes Ektoplasma und Kapsel, wobei die Essigsäuredifferenzierung wegfällt. Ebenso gibt Karbolfuchsin-Essigsäure-Methylenblau-Phosphin-Tannin-Rhodulinviolett-cF (2′) Ess (1—2′) M (2′) Ph (1—$1^1/_2$′) T (2′) Rv ($^1/_4$—$^1/_2$′) ein schönes Vierfarbenbild: Sporen rot, Leib gelb, Granula grün, Ektoplasma und Kapsel purpurn.

Wie die Bilder der Hefe lehren, stellt die Tanninmethode auch die breite Kapsel der Sporen dar. Es lag daher der Gedanke nahe, daß auch die Kapsel mancher Bakterien sich nach diesem Verfahren färben ließe. Das ist in der Tat der Fall, wie ich an 2 Beispielen zeigen will:

Streptococcus mucosus.

Die Ausstriche stammen von einem Lumbalpunktat und zeigten eine Reinkultur dieses Kapselcoccus: Karbolmethylenblau-Tannin-Safranin cM (2′) T (2′) S ($^1/_2$—1′) blaue Kokken, rote Kapsel (Fig. 6a). — Fuchsin-Tannin-Methylenblau F (2′) T (2′) M (1′) stellt die Kokken in roter, die Kapsel in blauer Farbe dar (Fig. 6b).

Milzbrand.

Die Präparate stammen aus Milzausstrichen einer infizierten weißen Maus. Karbolmethylenblau-Essigsäure-Tannin-Fuchsin cM (5′) Ess ($^1/_2$′) T (2′) F (2′) ergibt: Blaue Stäbchen von einer roten Hülle umgeben. Gewöhnlich haben 2 Stäbchen eine gemeinsame Kapsel (Fig. 6c.) — Karbolfuchsin-Essigsäure-Tannin-Methylenblau cF (3′) Ess ($^1/_2$—1′) T (2′) M (5—10′): Rote Stäbchen, blaue Kapsel (Fig. 6d).

Die Kapseln des Streptococcus mucosus und des Anthrax zeigen nach dieser Methode ganz scharfe Begrenzungslinien, so daß jeder Unvoreingenommene sich bei Betrachtung der Bilder nicht der Ueberzeugung verschließen kann, daß die Hülle dieser Bakterien tatsächlich etwas Präexistierendes ist. Die Annahme von Plasaj, die ich eingangs erwähnt habe, wird dadurch definitiv widerlegt.

Es erübrigt sich, noch auf den Einwand einzugehen, daß die mit der Tanninmethode dargestellte Hülle der Bakterien Farbstoffniederschläge, also Kunstprodukte seien, die in den Mikroben selbst gar nicht vorhanden sind (vergl. Jacobsthal, Kongreßbericht der Deutschen Gesellschaft für Mikrobiologie, 12.—14. Juni 1924). Da das Tannin mit basischen Farbstoffen Niederschläge bildet, wie ich eingangs erwähnt habe, so erscheint dieser Einwand auf den ersten Blick durchaus berechtigt zu sein. Doch bin ich im Laufe meiner Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangt, daß das Ektoplasma tatsächlich bei den Bakterien

präexistiert, und daß es nur an der Methodik gelegen hat, wenn man es bis heute nicht sichtbar machen konnte. Für das Vorhandensein des Ektoplasmas sprechen folgende Gründe:

1) Uebergießt man einen Hefeausstrich mit Lugolscher Lösung und mikroskopiert unter einem Deckgläschen, so erscheint der Zellleib gelb gefärbt, während das Ektoplasma als breiter, scharf begrenzter heller Ring sichtbar wird.

2) Stellt die Tanninmethode, wie ich in zahlreichen Versuchen festgestellt habe, nur eine schmale äußere Hülle der Bakterien dar, während andere Niederschläge völlig fehlen (bei Ausstrichen fester Nährböden). Ueberhaupt erhält man mit dieser Methode mit fast allen basischen Farbstoffen die Hülle der grampositiven Bakterien regelmäßig und sicher gefärbt, so daß es schwer fällt, an ein Kunstprodnkt zu denken.

3) Macht die Tanninmethode z. B. beim Diphtheriebazillus und Streptococcus die Teilungslinien sichtbar, an denen zwei oder mehrere Mikroben nach der noch nicht völlig erfolgten Teilung noch zusammenhängen. Farbstoffniederschläge können wohl schwer zur Erklärung dieser interessanten Befunde herangezogen werden.

4) Kann man nach der Tanninmethode auch die Kapsel mancher Bakterien z. B. Streptococcus mucosus und Milzbrand färben, und zwar erhält man dabei äußerst scharf begrenzte und distinkte Kapselbilder, so daß jeder Unvoreingenommene ein Kunstprodukt auf den ersten Blick ausschließen muß. Auch die Membran der Sporen beim Milzbrand und die breite Kapsel der Hefesporen werden ebenfalls nach dieser Methode prächtig gefärbt. Ich möchte noch die Tatsache unterstreichen, daß bei den Hefesporen nicht nur ein schmaler Rand, sondern die gesamte Umgebung der Spore in der Kontrastfarbe gefärbt erscheint. Daß aber in solcher Breite Farbstoffniederschläge möglich sind, wird wohl niemand mit Recht behaupten können.

5) Färben sich nach der Tanninmethode in alten Kulturen z. B. des Anthrax die sogenannten Schatten, das sind die leeren Hüllen der Bakterien, in derselben Farbe wie das Ektoplasma. Da diese Gebilde auch durch saure oder basische Farbstoffe allein (Eisenberg) darstellbar sind, so ist damit bewiesen, daß die Tanninmethode tatsächlich vorhandene Substrate färbt.

6) Wie ich eingangs erwähnt habe, läßt sich das Ektoplasma ebenfalls ohne Tannin darstellen, und zwar mittels der sogenannten Vitalfärbung. Ebenso kann die Membran der Milzbrandsporen ohne Tannin gefärbt werden und zwar durch Behandlung der Ausstriche mit Karbolfuchsin in der Kälte, wobei das ungefärbte Sporeninnere von einem roten Ring umgeben ist. Bei der Färbung nach Gram färbt sich ebenfalls nur die Sporenmembran in blauvioletter Farbe.

7) Wie ich später zeigen werde, färben sich die gramnegativen Bakterien trotz Tanninbehandlung in voller Größe mit dem nachfolgenden basischen Farbstoff. Ein Befund, den die Annahme von Farbstoffniederschlägen nicht zu erklären vermag.

8) Läßt sich zeigen, daß die Membran der im Innern des Zellleibes befindlichen Milzbrandsporen ebenfalls nach Tanninvorbehandlung sich färben läßt. Da aber im Innern der Zelle Niederschläge wohl kaum entstehen können, ist damit der Einwand, daß die Tanninmethode Artefakte darstellt, völlig widerlegt.

Ueber weitere Methoden zur Darstellung sowie über den chemischen Aufbau des Ektoplasmas der Grampositiven werde ich später berichten.

Erläuterung der Abbildungen.

Die Abbildungen 1—6 wurden mit 2 mm Immersion, Okular 18 (Zeiß) gezeichnet.

Abb. 1 Diphtherie, Agarkultur a) die Stäbchen zeigen an den Enden Verdickungen. Die stärker gefärbten Querlinien zeigen die Teilungsstellen an. Einige Stäbchen sind sehr schwach gefärbt und dürften wohl den sogenannten Schatten entsprechen (leere Hüllen ohne Zelleib).

b) Leib blau — Hülle rosa. Die Schatten sind schwach bläulich gefärbt.

c) Die Bakterien enthalten mehr Polkörner als nach der Neißerschen Methode, weil hier zwei bis drei Stäbchen durch ein gemeinsames Ektoplasma zusammenhängen.

Abb. 2 Staphylococcus, Agarkultur. a) Das Ektoplasma ist grün, der Leib wenig gefärbt. b—c) Zweifarbenbild des Coccus. d) Das rote Granulum nimmt nicht den ganzen Leib ein, die Hülle ist blau gefärbt. Manche Kokken enthalten 2 Granula, die an der Peripherie gelegen sind.

Abb. 3 Pneumococcus, Blutagarkultur. a) Die Doppelkokken hängen an dem gemeinsamen, hier violett gefärbten Ektoplasma zusammen, b) Leib in toto blaugrün. Die Doppelkokken haben ein gemeinsames rot gefärbtes Ektoplasma an der Berührungsstelle. c—e) Das Granulum liegt gewöhnlich am Ende des Coccus. Wenn zwei bis drei Granula vorhanden sind, so liegen sie im Zentrum.

Abb. 4 Backhefe. Die Zelle a hat eine doppelte Membran und dürfte einer Spore angehören. b) Spore hellgrün, der blaugrüne Leib zeigt z. T. dunkle Körnelung, Membran rot. c) Sporen violett, sonst wie b.

Abb. 5 Backhefe. Vierfarbenbild. Sporen violett, Sporenkapsel breit und rosa gefärbt. Zelleib gelb, enthält oft grüne Granula. Ektoplasma rot. Ein Teil der Zellen ist nur rot gefärbt. Diese Zellen dürften eine sehr dicke Hülle besitzen, so daß der Zelleib nicht sichtbar wird.

Abb. 6 a—b) Streptococcus mucosus. a) Ausstriche frisch nach der Herstellung gefärbt. Die Kokken sind blau, die rote Kapsel zeigt schmale, schwach gefärbte Fortsätze. b) Nach mehreren Wochen gefärbt. Die blaue Kapsel erscheint breiter und zeigt sehr scharfe äußere Begrenzungslinien. c—d) Anthrax aus Milzausstrichen einer weißen Maus. Die Kapsel ist scharf begrenzt und schließt für gewöhnlich zwei in eine Kontrastfarbe gefärbte Stäbchen ein. e) rotes Blutkörperchen.

Literatur.

1) Gotschlich s. Kolle-Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. 2. Aufl. Bd. 1. S. 59. — 2) zitiert nach Baumgärtel, Grundriß d. theoret. Bakteriologie. 1924. S. 9. — 3) Foth, Küstenberg, zit. nach Eisenberg im Handb. d. mikrobiolog. Technik von Kraus-Uhlenhuth. Bd. 1. S. 229. — 4) Plasaj, Cbl. f. Bakt. Abt. I. Org. Bd. 91. H. 6. — 5) Zettnow, Schaudinn, zit. nach Gotschlich, l. c. — 6) Kruse, zit. nach Gotschlich, l. c. — 7) Zettnow, Heim, zit. nach Eisenberg, l. c. — 8) Grimme, zit. nach M. Ficker, Handb. d. mikrobiolog. Techn. Bd. 1. S. 291. — 9) Eisenberg, ibidem. — 10) Unna, Chromolyse. (Handb. d. biolog. Arbeitsmeth. v. Abderhalden. Abt. V. T. 2. H. 1. S. 46—48.) — 11) Schumacher, J., Die Hefezelle, ihre Anatomie und ihr chemischer Aufbau. (Cbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 73. 1922. Nr. 15/16.) — (12) Schumacher, ibid. Abt. I. Orig. Bd. 88. S. 326 ff. — 13) Vortrag vor der Berl. Mikrob.-Ges. Okt. 1921, März 1922. (Cbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 73. S. 339.)

Nachdruck verboten.

Zur Theorie der Bakteriophagen (d'Herelle-Lysine).

6. Mitteilung über das d'Herellesche Phänomen[1]).

[Aus der Bakt. Abteilung des Reichsgesundheitsamts.]

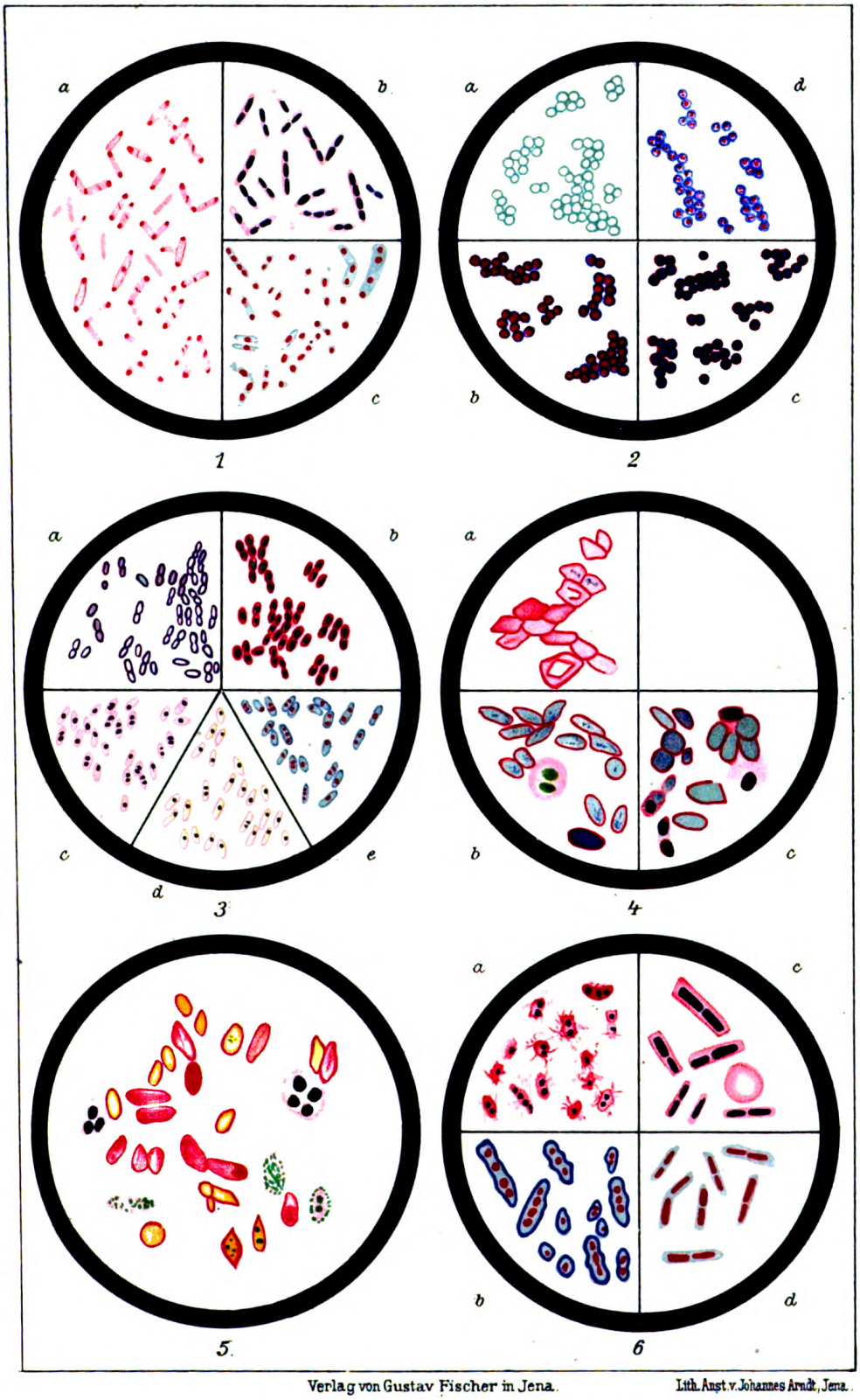
Von Prof. Dr. **E. Gildemeister** und Dr. **Kurt Herzberg.**

Mit 10 Abbildungen im Text.

I.

In den voraufgegangenen 5 Mitteilungen wurde versucht, Aufschluß über die Entstehungs- und Wirkungsweise der d'Herelle-Lysine

1) Nach einem in der Berliner Gesellschaft für Mikrobiologie am 2. Juni gehaltenen Vortrag. Die Durchführung der Untersuchungen wurde uns durch eine



Verlag von Gustav Fischer in Jena. Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

zu erlangen. Es konnte u. a. gezeigt werden, daß die d'Herelle-Lysine bereits in 16stünd. Kulturen, die bis dahin nicht lytisch wirkten, entstehen, daß sie ihre Wirkung unabhängig vom O_2-Partialdruck entfalten[1]). Eine Aktivierung von Bakterienzellpreßsaft durch Zusatz des als Aktivator gedachten Lysins gelang trotz Anwendung hohen Druckes (4000 Atm.) bislang nicht. Es ließ sich ferner nachweisen, daß die an Kieselgur adsorbierten Lysine aus diesem nach der Methode von Willstätter, Racke, Memmen und Waldschmidt-Leitz mittels Ammoniaks wieder ausgewaschen werden können, daß mithin eine Trennung der Lysine von ihrem Kulturmedium möglich ist. Auf eine unterschiedliche Größe der verschiedenen Lysine wiesen Beobachtungen hin, die bei Filtrationsstudien erhoben wurden; hierbei ergaben sich auch Differenzen in der Adsorbierbarkeit an Kieselgur, die von der Größe der H' abhängig waren und so den Schluß auch chemisch bestehender Unterschiede im Sinne eines mehr basischen bzw. mehr sauren Charakters nahegelegten (sofern nicht Koadsorbentien, zum Lysin nicht zugehörig, für diese Wirkung verantwortlich gemacht werden müssen).

Diese Ergebnisse waren nicht derart, daß sie eindeutig für oder gegen die Bakteriophagenhypothese gesprochen hätten; sie konnten sowohl den Anhängern wie den Gegnern der Virustheorie als Stütze dienen. Damit ist gekennzeichnet, daß vielen Beurteilungen über die Natur der Bakteriophagen Subjektives anhaftet, was auch daraus hervorgeht, daß so gute Kenner des d'Herelleschen Phänomens wie Doerr und Otto kürzlich schrieben, entscheidende Beweise für oder gegen die Virustheorie seien noch immer nicht beigebracht worden, während doch d'Herelle die Parasitennatur der Bakteriophagen nach wie vor für bewiesen hält. Vor kurzem hat sich d'Herelle noch einmal ausführlich mit den gegen seine Hypothese vorgebrachten Befunden anderer Autoren auseinandergesetzt. These und Antithese seien kurz wiedergegeben:

Nach d'Herelle sind drei Ansichten über die Natur der Bakteriophagie möglich. Man könne sie sich erstens durch eine von außen zugefügte, dem aufzulösenden Bakterium nicht zugehörige unbelebte Substanz hervorgerufen denken; zweitens durch Materie, die vom Bakterium selbst stammt; sie könne belebt und unbelebt sein; drittens durch ein Lebewesen, das nicht vom aufzulösenden Bakterium abstammt, einen Parasiten. Gegen Hypothese I, die von Kabeshima (Katalysator aus Leukozyten), Kuttner (Enzym aus Darm und Leber), sowie Borchard (Trypsin) verfochten werde, ließe sich einwenden, daß die Vermehrung der von außen zugefügten Substanz Umwandlung von Bakteriensubstanz in Katalysatorsubstanz verlange. Dadurch schreibe man aber dem Katalysator Assimilationsfähigkeit, d. h. Lebeweseneigenschaft, zu. Schalte man diese Umwandlung aus, so bleibe die zugesetzte Ausgangssubstanz unverändert und unvermehrt und müßte infolge der Verdünnung durch Passagen aus dem Reaktionsraum verschwinden, was bekanntlich nicht der Fall sei.

Die zweite Hypothese fasse die Bakteriophagie als durch bakterieneigne Materie bedingt auf. Wenn diese unbelebt sei, so könne die Bakteriophagenausscheidung einen normalen und anormalen Vorgang darstellen. Seiffert sähe in der Bakteriophagenentstehung einen anormalen Prozeß und spräche von exogener Autolyse. Es sei von ihm aber nicht bewiesen worden, daß die Bakteriophagen der Autolyse

hochherzige Spende des Herrn Generaldirektor Mueller-Fischli (Zürich) ermöglicht, dem wir auch an dieser Stelle unseren aufrichtigen Dank aussprechen möchten.

1) Verschiedentlich wird eine Arbeit von Mc Leod und Govenlock zitiert, nach der Lysine bei O_2-Abwesenheit nicht wirken sollen. Es läßt sich aus der Originalarbeit aber an keiner Stelle ersehen, daß die Autoren mit typischen Lysinen gearbeitet haben.

ihre Entstehung verdanken. Bordet und Ciuca nähmen, um das Fortwirken des anfänglich durch leukozytäre Elemente bewirkten Anstoßes zur Bakteriophagenproduktion zu erklären, die Vererbung zu Hilfe. Einerseits sei aber der Meerschweinchenversuch von B. und C. nicht zu reproduzieren und aus Leukozyten keine Bakteriophagie auslösende Substanz zu gewinnen, andererseits beweise die Fortführung der Bakteriophagie durch bakterienfreie Filtrate, in denen also die Deszendenten ausgeschaltet wären, daß die Einschaltung des Erblichkeitsbegriffes unberechtigt sei. Die Annahme von Lisbonne und Carrère, die Bakteriophagen entstünden durch bakteriellen Antagonismus, sei gleichfalls abzulehnen, da die Autoren bakteriophagenverseuchte Stämme zu ihren Versuchen benutzt hätten. Doerr denke an ein den Stoffwechsel veränderndes bakterielles Toxin, das durch die erkrankten Bakterien regeneriert würde. Dieser Vorgang erfordere aber wieder Assimilation, ein Attribut des Lebens. Außer diesen anormalen Prozessen könne eine normale Zelleistung für eine Bakteriophagenentstehung in Frage kommen. Sie schaffe die Schwierigkeit beiseite, für die serienweise Uebertragbarkeit der Bakteriophagen eine Erklärung zu finden. Auch hier könne die Substanz wieder belebt (Bail) oder unbelebt (Otto, Pico, Krauß, da Costa Cruz) sein. Die Splittertheorie Bails, welche die Möglichkeit einer Umwandlung der bei der Bakteriophagie gebildeten Splitter in normale Formen in Betracht ziehe, sei nicht zulässig, da ein und derselbe Bakteriensplitter die Bakteriophagie bei verschiedenen Bakterienarten, nicht nur bei derjenigen, aus welcher er stammt, hervorrufen könne. Jene Autoren, die im Bakteriophagen ein normales, unbelebtes Bakterienferment sehen, das durch Autolyse frei werde, sollten erklären, warum das Bakteriophagenphänomen bei jungen, nicht zur Autolyse neigenden Bakterien zu erzielen sei, während es bei alten Bakterien, die autolysieren, ausbliebe. Gegen die Auffassung, daß der Bakteriophage ein normaler Bakterienbestandteil sei, spräche die Seltenheit, mit der der Bakteriophage sich von vornherein in Bakterien nachweisen lasse. Vielmehr handle es sich auch bei diesen Kulturen (souches naturellement lysogènes) um eine Verseuchung durch einen autonomen Parasiten analog der Symbiose Hydra viridis-Zoochlorella vulgaris oder Myxomyzeten-Bakterien. Ebenso wie Hydra von Zoochlorella befreit werden könne, gelänge die Trennung der Symbiose Bakterium-Bakteriophage durch Abimpfen von Einzelkolonien. Solche Stämme zeigten in späteren Passagen nie mehr lytisches Vermögen, wodurch bewiesen sei, daß der Bakteriophage keine natürliche im Bakterium vorkommende Substanz sei. Andererseits gäbe es allerdings regelmäßig auftretende Bakterienstoffwechselprodukte, die andere Bakterien im Wachstum hemmen; sie seien aber nicht übertragbar, also keine Bakteriophagen.

Die Frage nach der Natur der Bakteriophagen ließe sich nur lösen, wenn man die Charakteristika der lebenden Substanz mit den Eigenschaften des Bakteriophagen vergliche. Hier ergäbe sich nun unzweifelhaft, daß der Bakteriophage ein Parasit sein müsse. Das Charakteristikum der lebenden Substanz sei Assimilation im heterogenen Milieu. Der Bakteriophage sei dazu imstande, da er die verschiedensten Bakterienarten als Nährboden benutzen könne und sich dabei vermehre. Ein anderes Zeichen der lebenden Substanz sei die Gewöhnbarkeit an Schädlichkeiten. Bei Bakteriophagen ließe sich diese Fähigkeit feststellen; sie könnten an Glyzerin, Säuren, Antibakteriophagenserum, Chinosol etc. gewöhnt werden. Assimilation, Gewöhnung, Vermehrung und Variabilität, die Kennzeichen des Lebens, würden also beim Bakteriophagen gefunden.

Wenn vielen von den Einwendungen, die d'Herelle gegenüber den Theorien und Versuchen anderer Autoren erhebt, auch zuzustimmen ist, vor allem den Bemerkungen über die Autolyse, die Splitterwirkung und den bakteriellen Antagonismus, so lassen sich doch ebenfalls gegen d'Herelles Ausführungen Bedenken geltend machen. Z. B., wenn d'Herelle die Umwandlung von Bakteriensubstanz in Katalysatorsubstanz nur durch Assimilation seitens des Katalysators glaubt erklären zu können, wenn er in der (angeblichen) Seltenheit des spontanen Auftretens der Bakteriophagen, die doch eine von der Anzahl der zur Verfügung stehenden Testkulturen abhängige Größe ist, eine Schwierigkeit sieht, in ihnen normale Bakterienbestandteile anzuerkennen, oder wenn er behauptet, in bakteriophagenfrei gemachten Kulturen entstünden spontan keine Bakteriophagen mehr. Nicht zwingend ist weiterhin die Bezugnahme auf die Charakteristika der lebenden

Substanz. d'Herelle glaubt sie bei den Bakteriophagen nachgewiesen zu haben (Assimilation im heterogenen Milieu, Gewöhnung an Schädlichkeiten, Vermehrung); aber alle diese Vorgänge sind nur möglich im Beisein einer Komponente, die nicht nur leben, sondern sich vermehren muß, in Gegenwart des Bakteriums. Dadurch wird man außerstande gesetzt, zu erkennen, welchen Anteil der Bakteriophage, welchen die Bakterien an der Gewöhnung, Vermehrung etc. haben. Hierauf ist schon von Doerr hingewiesen worden.

Abgesehen von den direkten Beweisen der lebenden Substanz hat d'Herelle in seinen ersten Arbeiten Befunde mitgeteilt, die sich nach seiner Ansicht nur an lebender Materie erheben lassen. Auch die dort gezogenen Schlußfolgerungen sind unberechtigt, wie an zwei Beispielen gezeigt sein möge.

d'Herelle schreibt, daß die allgemeine Temperaturwiderstandsfähigkeit der Bakteriophagen bis zu 72° während einer Stunde für ein belebtes Wesen, aber gegen ein Ferment spräche. Nun gibt es einmal Fermente, die gut höhere Temperaturen aushalten, wie z. B. das Papayotin, wodurch d'Herelles Schlußfolgerung schon beeinträchtigt würde. Außerdem gelingt es aber unschwer zu zeigen, daß die wahre Temperatur-Resistenzgrenze der Bakteriophagen viel tiefer, etwa bei 56° C liegt. Doerr u. Rose beobachteten, daß Lysine, die man mit redestilliertem Wasser 1000fach verdünnt, meist schon durch einstündiges Erwärmen auf 56° C völlig zerstört werden. Doerr und Rose lassen es noch offen, ob die größere Temperaturwiderstandsfähigkeit der Lysine in Wittepeptonlösungen durch die Proteine oder Salze des Wittepeptons bedingt ist. Zur Klarlegung werden die letzten Veröffentlichungen von da Costa Cruz beitragen, die eine Ausflockbarkeit der Lysine im salzarmen Medium erweisen und auf Grund deren da Costa Cruz physikalische Beziehungen zu den Globulinen sucht.

Ein zweites Beispiel bietet d'Herelles Versuch über die Resistenz der Bakteriophagen gegen Chininsalze. d'Herelle findet, daß die Bakteriophagen gegen Chinin sehr wenig widerstandsfähig sind, und schließt daraus wieder auf ihre Lebewesennatur, da Fermente durch dieselben Salzkonzentrationen nicht zerstört würden. Auch dieser Beweis ist nicht stichhaltig, nachdem durch die Untersuchungen von Rona und seinen Mitarbeitern bekannt geworden ist, welche außerordentlichen Unterschiede in der Chininresistenz bei Fermenten zu finden sind (Serumlipase-Leberlipase bzw. Menschenlipase-Meerschweinchenlipase).

Analogieschlüsse haben in der Physik und Chemie ihre Bedeutung gehabt, wie z. B. bei den ersten Atomgewichtsbestimmungen durch Berzelius. In den biologischen Wissenschaften muß ihre Anwendung aber ungleich zurückhaltender geschehen, da nie alle Möglichkeiten des Naturgeschehens in Betracht gezogen werden können, die Schlüsse daher ihre Unbedingtheit verlieren. Hier helfen nur direkte Beweise.

II.

In den folgenden Versuchen hatten wir es uns zur Aufgabe gemacht, die Abhängigkeit der Lysinbildung vom Nährboden etc. zu studieren. Dabei wurden Verhältnisse aufgedeckt, die eine eindeutige Antwort auf die Frage geben, ob die Vorgänge bei der Vermehrung der Bakteriophagen in jeder Phase den Regeln entsprechen, die die allgemeine Bakteriologie erhebt, um einen Vorgang als durch ein belebtes

Virus hervorgerufen ansehen zu können oder nicht. Zu den Versuchen wurde durchgängig ein sogenannter Spontanlysinbildner (souche naturellement lysogène nach d'Herelle) verwendet, also ein Keim, der stets aus sich heraus, ohne Zusatz fremder Lysine, Bakteriophagen bildet.

Die erste Beobachtung über das spontane Entstehen von Bakteriophagen stammt von Gildemeister, der sich bald weitere von Otto und seinen Mitarbeitern, Bail, Seiffert u. a. anschlossen. Die ersten Spontanlysine wurden in alten oder wenigstens älteren Kulturen gefunden, bis Otto und seine Mitarbeiter, Flu und in systematischen Untersuchungen wir nachweisen konnten, daß auch in jungen 16stünd. Bouillonkulturen Bakteriophagen auffindbar sind. Die Bewertung dieser Feststellung, daß spontan in Reinkulturen Bakteriophagen auftreten können, ist von den verschiedenen Autoren je nach ihrer Einstellung zu der Virustheorie d'Herelles erfolgt. Die Anhänger der Virustheorie erklärten, daß es sich hier zweifellos um Mischkulturen des Bakteriophagen mit einer anderen Bakterienart handele. Bei der Isolierung aus dem Organismus sei nicht nur die betr. Bakterienart, sondern gleichzeitig auch der Bakteriophage gewonnen worden, der dann mit dem Bakterium in Mischkultur fortgezüchtet worden sei. Die Gegner der Virustheorie sahen in der Feststellung des Vorkommens von Spontanlysinen in Reinkulturen eine wesentliche Stützung ihrer Stellungnahme. Eine dritte Gruppe von Autoren, die ihre Stellung zur Bakteriophagentheorie d'Herelles noch nicht präzisiert hat, wies darauf hin, daß diese Beobachtungen an sich recht interessant, aber immerhin doch selten seien, und daß die Mehrzahl von Kulturen der gleichen Bakterienarten derartige Erscheinungen vermissen ließe. Dieser Punkt veranlaßt uns, einige Bemerkungen über den Nachweis derartiger Spontanlysine einzufügen. Enthält eine Kultur Spontanlysine und gleichzeitig Bakterien, die gegen dieses Lysin empfindlich sind, so ist der Nachweis der Lysine leicht. Sind aber in einer Kultur Bakteriophagen vorhanden, gegen die die eignen Bakterien resistent sind, dann kann der Nachweis unter Umständen sehr schwierig werden. Der Stamm Coli 88 unserer Sammlung ist dafür ein Beispiel. Er bildet seit Jahren mit größter Regelmäßigkeit Lysine, gegen die die Bazillen des Coli 88 selbst gänzlich unempfindlich sind. Diese Bakteriophagen wirken einzig auf 2 Shiga-Kulturen (Shiga und Shiga III) von 16 geprüften Shiga-Stämmen. Auch zahlreiche Flexner- und Y-Ruhrstämme sowie Typhus-, Paratyphus- und Coli-Kulturen blieben vollständig unbeeinflußt. Aus diesem Beispiel ist zu entnehmen, daß die Seltenheit des Nachweises der Spontanlysine in dem Mangel geeigneter Kulturen begründet ist und nicht als Seltenheit des Auftretens solcher Bakteriophagen gedeutet werden darf.

Mit dem genannten Spontanlysinbildner Coli 88 wurden die zu schildernden Versuche ausgeführt. Er ist ein typischer Coli-Stamm, der seit mehr als 10 Jahren bei uns fortgezüchtet wird. Seine Kolonieform ist rund, nicht schleimig; Flatterformbildung kommt spontan nicht vor. Die Spontanlysinbildung ist in jeder Kulturpassage nachweisbar und beträgt im Durchschnitt 30000 Lysinteilchen pro 0,05 ccm (als Maßeinheit der Tropfenspur). Die Spontanlysinbildung kann bei besonders guter Bakterienentwicklung bis auf 60000 pro 0,05 ccm gesteigert sein. Dies entspricht einem Plattentiter von 10^{-4} und würde einem Bouillontiter von 10^{-7} gleichzusetzen sein, wenn die

Aktivität des einzelnen Bakteriophagen in Bouillon z. B. der eines Lauda-Bakteriophagen gleichkäme. Die Bouillonkultur wird aber selbst durch eine Lysinkonzentration 1:10 nur wenig aufgehellt, nicht klar. In bezug auf Flatterformbildung bei dem lysosensiblen Shiga-Stamm sowie Uebertragbarkeit im Bouillonversuch ist das Lysin als ein typischer Bakteriophage anzusehen. Die Lochbildung beim Plattentropfversuch ist im Lichtkegel der Falkenthal-Lampe scharf; sie wird auf dem Stamm Shiga unserer Sammlung erzielt. Die Messung der Bakteriophagenzahl erfolgte in allen Versuchen nach unserer im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. p. 13 und 228 angegebenen Plattenmethode. In jedem Versuch wurde die in einem Volum festzustellende Anzahl der Bakteriophagen nach zweckentsprechender Verdünnung als Durchschnittswert von 12 Tropfenspuren (4 Platten zu 3 Spuren) berechnet.

Die Verwendung von Spontanlysinbildnern zur Erkennung der Bildungsgesetze der Bakteriophagen hat gegenüber der Bakteriophagenentstehung durch Zusatz von Bakteriophagen zu Bakterien den Vorteil, daß man mit einem vereinfachten System arbeitet. Man impft eine Bouillon stets nur mit dem Spontanlysinbildner, nie mit einem Bakteriophagen und macht sich somit von einer Komponente unabhängig; der Bakteriophage tritt gleichzeitig mit der Vermehrung des Bact. coli in Erscheinung. Infolge dieses Verhaltens eignen sich Spontanlysinbildner in besonderer Weise dazu, den Entstehungsweg der Bakteriophagen vom Beginn der Kultur an zu verfolgen. Die übliche Bildung, die durch Zusatz von Bakteriophagen zu Bakterien erzielt wird, vereitelt durch die jedesmal erforderliche Bakteriophagenzuführung die Erkennung der primären Einflüsse, die zur Bildung und Vermehrung der Bakteriophagen führen.

Um die Bakteriophagenentstehung zu verfolgen, wurden 3 Faktoren variiert: der Nährboden, die Temperatur und die Zeit.

III.

In bezug auf den Nährboden ist bereits von d'Herelle angegeben worden, daß seine Güte für die Entstehung der Bakteriophagen belanglos ist, sofern nur die Vermehrung der Bakterien gewährleistet ist. Neuerdings wurde zwar von da Costa Cruz sowie Lisbonne und Carrère behauptet, daß die auflösende Wirkung und damit die Vermehrung der Bakteriophagen in elektrolytarmen Nährböden ausbliebe, jedoch konnte d'Herelle diese Angabe gar nicht, Doerr, Ciuca und Brutsaert sie nur mit sehr starken Einschränkungen bestätigen. Für Spontanlysine ist die Frage, ob besondere Substanzen zur Bakteriophagenentstehung erforderlich sind, noch nicht beantwortet. Um dies zu entscheiden, wurden eiweißfreie Nährmedien benutzt, wie sie von Proskauer und Beck sowie Braun und Cahn-Bronner angegeben worden sind. Als Nährboden dienten:

I. A. Aqua red. 80,0
NaCl 0,5
KH_2PO_4 0,2
$NaHCO_3$ bis zur Lackmusneutralität
1 Std. bei 100° C sterilisiert

B. Amm. Laktat 0,6
Aqua red. 20,0
1 Std. bei 100° C sterilisiert

Sodann gibt man unter Wahrung der Sterilität A. zu B. $P_H = 7{,}5$.

Oder II.

Glyzerin	0,3
Amm.-Phosphat	0,3
Aqua red.	30,0

1 Std. bei 100° C sterilisiert
$P_H = 7{,}5$.

Zum Zwecke bester Sauerstoffzufuhr und zur Vermeidung genügend bekannter Störungen von seiten der Glasgefäße wurde in bis dahin ungebrauchten 100 ccm Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas gezüchtet. Höhe des Kulturmediums etwa 1 cm. Gezüchtet wird der Stamm Coli 88, die Passageimpfung erfolgt stets mit 1 Oese alle 24 Std. Die Nährböden reichen aus, um bei 37° in 24 Std. eine gute Trübung entstehen zu lassen. Es wurden in dieser Weise 15 Passagen kultiviert. In allen diesen Kulturen treten nun trotz der extrem einfachen Ernährungsverhältnisse Spontanlysine, wenngleich an Menge sehr vermindert, auf. d'Herelle kann dieses Ergebnis für seine Auffassung verwenden, daß die Bakterienleibessubstanz, nicht der Nährboden selbst dem Bakteriophagen zur Nahrung dient. Muß es doch nach d'Herelle so lange zur Bakteriophagenbildung auch unter einfachsten Bedingungen kommen, als die Bakterien Möglichkeit zur Vermehrung haben. Seine Gegner werden argumentieren, daß das hohe synthetische Vermögen der Bakterien selbst aus einfachsten Bausteinen Leibessubstanz und fermentartig wirkende Produkte in genügender Menge aufbauen kann, um letztere auch noch nach außen abzugeben. Man wird zugeben, daß nach dem Versuchsergebnis beide Ansichten zu Recht bestehen können. An Tatsächlichem bleibt nur die Feststellung, daß die Atomgruppen NH_3, COOH und P_2O_5 sowie vielleicht einige anorganische Elektrolyte zur Bildung der Bakteriophagen (Synthese der Lysine) genügen.

Konnte somit bei den Nährbodenversuchen die Notwendigkeit einer besonderen Verbindung für die Bakteriophagenentstehung nicht nachgewiesen werden, so führte doch die Untersuchung über den Einfluß der Temperatur zu einer Fragestellung, die das Problem der Virus- oder Nichtvirusnatur vom allgemein-bakteriologischen Standpunkt aus angriff und eine direkte Beweisführung ermöglichte.

IV.

Sieht man von den Arbeiten ab, die sich mit der Thermoresistenz der Bakteriophagen beschäftigen, so haben bisher Chou in dem Laboratorium von Otto, sodann Doerr und Grüninger, Gildemeister und d'Herelle die Frage bearbeitet, bis zu welchen Temperaturgrenzen Bakteriophagen gebildet werden. Chou fand, daß Flexner-Bazillen durch zugesetztes Lysin bis zu 8,5° C herab und vielleicht auch noch unterhalb dieser Temperatur aufgelöst werden, wenn auch die Geschwindigkeit des Vorganges sehr verlangsamt war. Das Optimum der Lysinbildung wurde bei 33° C gefunden. Gildemeister hatte schon vorher Coli-Bazillen beschrieben, die eine geringe Lysinvermehrung bei Temperaturen von 6—8° C erkennen ließen. Doerr fand, daß ein zu Coli-Bazillen hinzugesetztes Lysin diese trotz reichlicher Bakterienvermehrung bei 43° C nicht mehr anzugreifen imstande war; dementsprechend war nach der Bebrütung die Zahl der Bakteriophagen nicht vermehrt sondern verringert; zwischen der 6. und 7. Stunde erreichte sie den Wert Null.

Der Fall von Doerr erscheint besonders interessant. Eine Weiteruntersuchung dieses Befundes in einem Sinne, wie er später auseinandergesetzt werden wird, ist jedoch dadurch unmöglich gemacht, daß zwei gewissermaßen artfremde Systeme (Bakterien und Bakteriophagen) zusammengebracht werden müssen, um den Vorgang der Bakteriophagenproduktion überhaupt einzuleiten. Im Falle der Verwendung eines Spontanlysinbildners wäre dagegen ein Stamm zur Anwendung gekommen, bei dem die Lysinbildung eine Lebensäußerung ist, die eher physiologisch als pathologisch genannt werden muß, da es zu einer Abartung der Kolonieform nicht kommt und das Kohlehydratspaltungsvermögen sowie die Agglutinabilität gut erhalten sind. Die von d'Herelle (in Analogie des Zusammenlebens von Hydra und Zoochlorella sowie Myxomyces und Bakterien) als Symbiose charakterisierte Zugehörigkeit des Spontanlysins zu seinem Bakterium gestattet aber ungleich besser als das System Bakterium plus stammfremden Bakteriophagen die Untersuchung der Grenzen, an denen die Bakteriophagenbildung aufhört.

Prüft man an diesem Spontanlysinbildner die Fähigkeit der Bakteriophagenbildung bei verschiedenen Temperaturen nach Ablauf von 24 Std., so ergibt sich für die Bakteriophagen folgende Kurve (Abb. 1).

Die zugehörige Bakterienkurve verläuft folgendermaßen (Fig. 2).

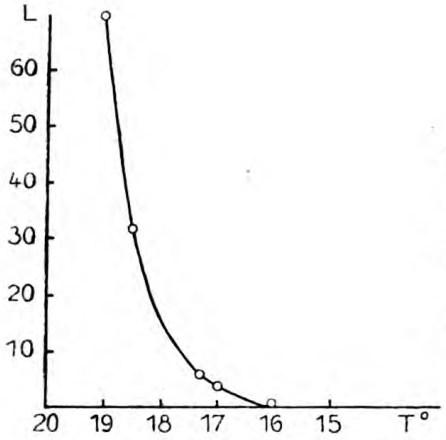


Fig. 1. Abszisse = Temperatur in Celsius. Ordinate = Anzahl der Bakteriophagen pro 0,05 ccm.

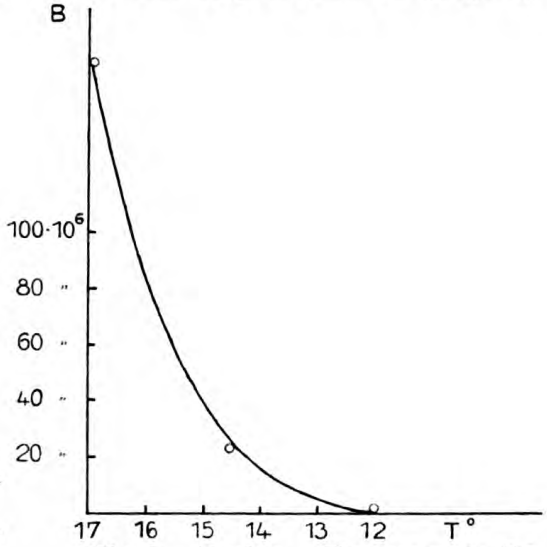


Fig. 2. Abszisse = Temperatur in Celsius. Ordinate = Bakterienzahl pro 1 ccm.

Technik: In Erlenmeyer-Kolben von 100 ccm Rauminhalt werden je 10 ccm einer Bouillonaufschwemmung des Stammes Coli 88 gegeben. ($P_H = 7{,}4$.) Sie enthält 50000 Keime und 2—3 Bakteriophagen in 1 ccm. (Von 20 Tropfenspuren weisen zu Beginn des Versuches also nur 2 oder 3 ein Loch auf, die anderen zeigen ununterbrochenes Rasenwachstum.) Die Kolben werden bei verschiedenen Wärmegraden aufbewahrt; Kontrolle der Temperaturen durch Maximum- und Minimumthermometer. Nach 24 Std. Zählung der Bakterien sowie Erhitzung von 2 ccm der Kultur während 40 Minuten auf 57,5° C zur Bestimmung der Bakteriophagenzahl im Plattentropfversuch.

Die Fig. 1 und 2 zeigen, daß bei 15° in 24 Std. keine Bakteriophagen gebildet werden, obwohl die Bakterienkurve ein gutes Bakterienwachstum bis zu 13° und noch weiter herab erkennen läßt (Einsaat

$= 0{,}5 \cdot 16^6$!). Untersucht man nach 48 Std., so sind bei 15° einige Bakteriophagen in jeder Tropfenspur nachweisbar, nicht aber bei 12°. Bei einer Temperatur von 10,5° bleibt eine Vermehrung der Bakteriophagen bis zu einer Keimzahl von 100 Millionen in 1 ccm aus. Läßt man die Kultur sich weiter bei dieser Temperatur bis zum Wachstumsstillstand der Bakterien entwickeln, so vermehren sich auch hier die Bakteriophagen auf 1—3 in jeder Tropfenspur. Es gelingt aber, ein völliges Sistieren der Bakteriophagenentwicklung zu erzielen, wenn man die Kultur bei 8,75—9° C züchtet. Führt man mit diesen Kulturen bei dieser Temperatur Passagen aus, so ist die zweite Passage von Beginn der Kultur an völlig bakteriophagenfrei, da die ursprünglich in der ersten Kultur noch vorhandenen Bakteriophagen infolge der Verdünnung und des Aufhörens jeder Bakteriophagenproduktion später verschwinden müssen. Wir haben diese Kulturen bis zu 6 Wochen bei 8,75° aufbewahrt, ohne daß es, trotz einer Vermehrung der Bakterien von beispielsweise 100000 auf 1 Milliarde pro ccm, zu einer Bakteriophagenbildung gekommen wäre.

Technik der Züchtung bakteriophagenfreier Coli 88-Kulturen.

Die Bakterieneinsaat (Coli 88) geschieht in 10 ccm gewöhnlicher Rindfleischbouillon (vom PH 7,4) mit 1 Proz. Peptonzusatz, die sich in flacher Schicht in einem Erlenmeyer-Kolben von 100 ccm Rauminhalt befindet. Aufbewahrung in einem Raum, der eine konstante Temperatur von 8,75°—9° C hat. In der kalten Jahreszeit ist diese Forderung verhältnismäßig leicht zu erfüllen, doch ist eine Kontrolle durch Maximumthermometer notwendig. Zweckmäßig gewöhnt man den Coli-Keim vorher an Temperaturen von 12° und nach einigen Passagen an 10°, um ihn erst dann in die Temperatur von 8,75° zu bringen. Sobald eine leichte Trübung des Nährbodens eintritt, wird mittels Pipette 0,1 ccm in einen neuen Kulturkolben überimpft[1]). Bei einer Einsaat von 10^5 Keimen pro Kubikzentimeter beginnt die Trübung nach einigen Tagen; 1 ccm dieser sich eben trübenden Bouillon enthält etwa 10^7 Keime, die Bakterienzahl hat sich also verhundertfacht. Nach etwa 3 Wochen sind 1 Milliarde Keime erreicht. Die Kulturen sind in jedem Fall und zu jeder Zeit bakteriophagenfrei.

Durch Anwendung besonderer Temperaturen ist es mithin gelungen, einen Spontanlysinbildner lysinfrei zu machen, oder im Sinne der Virustheorie gesprochen, den Coli-Stamm von der Mischinfektion mit dem Bakteriophagen zu befreien. Um die Bakteriophagenfreiheit dieser Kulturen zu beweisen genügen nur Methoden, die auch den Nachweis eines einzigen Bakteriophagen gestatten. Die Wichtigkeit dieser Kontrolle für die weiteren Schlußfolgerungen erfordert ihre Beschreibung.

Die qualitative Prüfung wurde so vorgenommen, daß die 10 ccm

1) Die Coli-Entwicklung und damit die Passagenzüchtung geht bei einer Temperatur von 8,75° langsam vonstatten. Denselben Effekt der völligen Bakteriophagenfreiheit der Coli 88-Kulturen erreicht man schneller, wenn bei 10,5° gehaltene Kulturen alle 48 Std. überimpft werden. Denn bei einer Einsaat von 1 Million Keime pro Kubikzentimeter treten die ersten Bakteriophagen im Gesamtvolum von 10 ccm bei 10,5° nicht vor Ablauf von 72 Std. auf. Die Methode des Nachweises eines einzigen Bakteriophagen in 10 ccm Flüssigkeit wird später beschrieben.

enthaltende Kultur in 5mal 2 ccm aufgeteilt und 40 Min. auf 57,5° C erhitzt wurde. Filtrationsverfahren kommen nicht in Frage, weil die Gefahr des Bakteriophagenverlustes hierbei groß ist, wie in unserer 4. Mitteilung gezeigt wurde. In jedes Reagenzglas wurden zu den 2 ccm erhitzter Coli-Kultur 8 ccm Bouillon und 0,05 ccm einer frischen Aufschwemmung des Stammes Shiga (1 Oese Schrägagarkultur auf 10 ccm Bouillon) gegeben, 24 Std. bebrütet, sodann 40 Min. auf 57,5° erhitzt, die abgetöteten Kulturen im Plattentropfversuch auf Bakteriophagen geprüft.

Die folgenden Bedingungen müssen erfüllt sein, damit dieser Bakteriophagennachweis als vollgültig angesehen werden kann.

1) Die Erhitzung auf 57,5° während einer Zeit von 40 Min. darf zu keinem Bakteriophagenverlust führen. Beweis: Von einem Coli 88-Berkefeld-Filtrat, das in 0,5 ccm 80 Bakteriophagen enthält, werden je 0,5 ccm

a) mit 1,5 ccm steriler Bouillon,
b) mit 1,5 ccm 48stünd. bakteriophagenfreier 10,5° Coli 88-Kultur versetzt.

Beide Lösungen enthalten nunmehr rechnerisch in 0:05 ccm 2 Bakteriophagen; eine Bindung der Bakteriophagen durch die Coli-Bazillen tritt nicht ein! Lösung a) bleibt unverändert, Lösung b) wird 40 Min. auf 57,5° C erhitzt. Die darauf vorgenommene Titration ergibt, daß in a) und b) pro 0,05 ccm 2 Bakteriophagen vorhanden sind. Durch die Erhitzung ist ein Bakteriophagenverlust also nicht eingetreten.

2) Der Shiga-Stamm muß eine Einkeimdisposition besitzen, d. h. ein Bakteriophage muß ausreichen, um in einer Shiga-Bouillonkultur eine Bakteriophagenvermehrung zu bewirken. Beweis: Ein Coli 88-Berkefeld-Filtrat wird so verdünnt, daß 12 mit einer $^1/_{100}$ Pipette nacheinander ausgetropfte Tropfenspuren (je 0,05 ccm) folgende Gehalte an Bakteriophagen aufweisen:

1	2	3	1
1	1	0	2
2	0	1	2

Mit der gleichen Pipette waren vorher von demselben Filtrat in 12 Reagenzgläser je 0,05 ccm gegeben worden, danach je 10 ccm Bouillon zugefügt, jedes Reagenzglas mit dem Stamm Shiga beimpft, auf 24 Std. in den Brutschrank gestellt, 40 Min. bei 57,5° abgetötet, im Tropfverfahren qualitativ auf Lysine geprüft. Von den 12 Kulturen lassen 4 den Shiga-Rasen unverändert, 8 zerstören ihn im Bereich der Tropfenspur. Setzt man dieses Resultat mit dem obigen Bakteriophagentropfversuch in Beziehung, so ergibt sich, daß für jedes der 8 Röhrchen, in denen Bakteriophagen zur Entwicklung kamen, als Einsaat-Durchschnittszahl 1,875, rund 2 Bakteriophagen gesetzt werden müssen. Eine solche Gesetzmäßigkeit widerspricht aber der Wahrscheinlichkeit und dem Versuch. Es werden einmal 3, das andere Mal 1 Bakteriophage im Beginn vorhanden gewesen sein. Als Ergebnis läßt sich daher feststellen, daß, sobald in der auf Bakteriophagen zu untersuchenden Bouillon auch nur ein Bakteriophage vorhanden ist, durch Zusatz des Stammes Shiga und Bebrütung eine Bakteriophagenvermehrung eintritt, die nach 24 Std. im Plattenversuch mit starker Rasenzerstörung reagiert. Wir haben daher die Berechtigung zu

der Aussage, daß das Vorhandensein eines einzigen Bakteriophagen im vorliegenden Fall mit Sicherheit nachgewiesen werden kann.

Der Umstand nun, daß in den 8,75° Kulturen nie Bakteriophagen auftreten, führt unmittelbar zur Frage nach der Natur dieser Substanzen. d'Herelle nimmt an, daß es Parasiten des Parasiten seien, die irgendwann einmal, zumeist im Tierkörper miteinander in Kontakt gekommen sind und seitdem vergesellschaftet leben. Ist diese Ansicht richtig, so darf es nach einmal gelungener Befreiung der Coli-Bakterien von den Bakteriophagen nicht zu einem Neuauftreten von Bakteriophagen kommen. Wir verwenden also zum Zwecke des Beweises der Virus- oder Nichtvirusnatur die bakteriologische Grundregel, daß Materie, die als Erreger angesprochen wird, nach ihrer Entfernung aus einem Kulturmedium in diesem von selbst nicht wieder entstehen kann. Wie verhält sich nun eine solche bakteriophagenfrei gemachte Kultur unter Bedingungen, die der Bakteriophagenvermehrung günstig sind, z. B. bei höheren Temperaturen?

Versuch.

8,75—9°-Kultur des Coli 88, bakteriophagen, 4 Wochen alt, 1 Milliarde Keime in 1 ccm enthaltend, wird mit gewöhnlicher Bouillon so verdünnt, daß pro Kubikzentimeter 10 Millionen Keime vorhanden sind, sodann bei 37° im Wasserbad gehalten. Nach 30 Min. ist die Keimzahl unverändert; auch zu einer Bakteriophagenproduktion ist es nicht gekommen. Nach 45 Min. treten die ersten Bakteriophagen auf, nach 75 Min. sind über 700 pro 0,05 ccm erreicht (Kurve 3). Die Keimzahl ist nach 60 Min. auf 20 Millionen gestiegen.

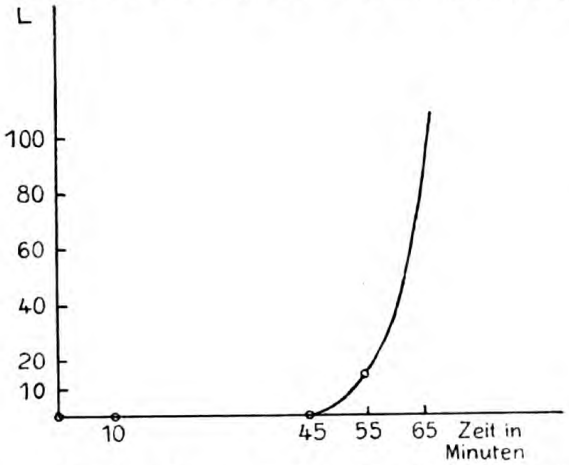


Fig. 3. Abszisse = Zeit in Minuten. Ordinate = Anzahl der Bakteriophagen pro 0,05 ccm.

Wir halten dieses Ergebnis für entscheidend. Die Coli-Ausgangskultur war im bakteriologischen Sinne als bakteriophagensteril anzusehen, weil Bakteriophagen nie auftraten, ihr Nachweis aber mit einer Leichtigkeit gelingt, die unter Krankheitserregern vielleicht nur bei hochvirulenten Pneumokokken in Mäuseversuch ein Analogon findet. Treten in einer solchen Kultur nach mehreren bakteriophagensterilen Passagen doch wieder Bakteriophageu auf, wie es durch Temperaturerhöhung[1]) gesetzmäßig erzwungen wird, so kann dies nur als Beweis dafür angesehen werden, daß die Bak-

1) Es ist vorläufig nur von theoretischem Interesse, für die Entscheidung über die Virustheorie jedoch gleichgültig, ob die Lysinbildung ausschließlich bei höheren Temperaturen oder vielleicht auch bei niederen nach extrem langen Zeiträumen beobachtet wird. Wichtig ist, daß der Virulenzsteigerungsversuch (siehe S. 414) nach d'Herelle im Anfang der Kultur ein negatives Resultat liefert. Es kommt allein darauf an: eine mit Sicherheit bakteriophagensterile Kultur spontan zur Lysinbildung anzuregen. Worauf sich die Sicherheit der Bakteriophagenfreiheit gründet, wird im Virulenzsteigerungsversuch geschildert werden.

teriophagen keine Parasiten sind, d'Herelles Theorie mithin unrichtig ist [1]).

Auf die Regelmäßigkeit des Vorganges ist Wert zu legen, weil frühere Befunde von Otto und uns, die in ähnlicher Richtung gemacht waren, noch zu sehr den Charakter der Unbeständigkeit aufwiesen. Es konnte gezeigt werden, daß Kulturen, die ursprünglich nicht lysogen wirkten, bei häufigerer Bouillonpassage die Fähigkeit der Lysinbildung erlangen. Auch diese Feststellung widerlegte die Virustheorie nicht, da d'Herelle einwenden konnte, daß der Bakteriophage sich in einem Latenzstadium befunden habe, aus dem er durch die Passagen in das aktive Stadium überführt worden sei. In der Tat ist es nicht einzusehen, warum diesem als Lebewesen angesprochenen Bakteriophagen bei seltenen Passagen nicht ebenso Eigenschaften verloren gehen sollen wie es bei Bakterien genügend bekannt ist. Immerhin ist der Unterschied unserer alten Versuche im Vergleich zu den jetzt vorgenommenen beträchtlich. Auch jetzt züchten wir dauernd in Bouillon, und zwar einen Stamm, dessen großes Lysinbildungsvermögen genau bekannt ist; trotzdem treten bei 8,75° nie Lysine auf. Früher wurde gezüchtet und gesehen, ob zufällig ein Lysinnachweis glückte; zuweilen verschwanden die Lysine, um unvermutet wieder aufzutreten. Jetzt ist es gelungen, Lysinschwund und -erscheinen jederzeit zu erzwingen. Aber trotzdem könnte noch eingewendet werden, daß das Nichterscheinen der Bakteriophagen bzw. ihre Nicht-Nachweisbarkeit in den bei niederen Temperaturen gehaltenen Kulturen auch hier auf einem Stadium der Inaktivität oder Abschwächung beruhe, wie es z. B. als Folge längeren Erwärmens auf Temperaturen über 65° beschrieben worden ist. Es war zwar wenig wahrscheinlich, daß dieser Fall eingetreten sein könnte, da d'Herelle die Bouillonpassage bei Gegenwart eines geeigneten Keims als wirksamstes Mittel zur Virulenzerhaltung und -steigerung der Bakteriophagen bezeichnet. Der Aktivitätssteigerungsversuch wurde dennoch bei mehreren Kulturen von 8,75° und 10,5° ausgeführt. d'Herelle hat bekanntlich die Versuchsanordnung selbst angegeben, und andere Autoren haben bestätigt, daß sich mit ihr „inaktive" Bakteriophagen wirksam machen lassen, daß sie ihre Virulenz wiedergewinnen. Wir sind also in der angenehmen Lage, den, soweit wir erkennen können, einzigen Einwurf, welchen man gegenüber der von uns behaupteten Abwesenheit der Bakteriophagen in den 8,75°-Kulturen machen kann [2]),

1) Es bliebe zu erörtern, wieweit durch diese Feststellung die zweite Theorie, welche die Bakteriophagen als mit Lebeweseneigenschaften ausgestattete Materie auffaßt, die Splittertheorie von Bail, berührt wird. Nach Bail wäre mit der Möglichkeit zu rechnen, daß die lebewesenartig gedachten Bakteriophagen Splitter des B. coli (also keine Parasiten) sind. Mit der Annahme dieser Auffassung würde man aber Resultate zu erwarten haben, die vorläufig noch als ausgeschlossen gelten müssen. Bail hält nämlich im Prinzip die Umwandlung der Splitter in vegetative Formen für möglich. Dies würde zu der Konsequenz führen, daß unter dem Ablauf der Bakteriophagenreaktion aus Splittern der einen Bakterienart entweder vegetative Formen der anderen entstehen können, oder aber daß in einer z. B. unter dem Einfluß eines Coli-Lysins stehenden Ruhrkultur später neben den Ruhrkeimen solche des B. coli zu finden sind. Für ein solches Geschehen liegt aber weder nach der einen noch nach der anderen Richtung ein Befund vor.

2) Anm. bei der Korrektur: Der von Prausnitz auf der Mikrobiologentagung in Göttingen gemachte Einwurf, die Lysine seien bei niederen Temperaturen vielleicht stärker am Bakterium adsorbiert als bei höheren und dadurch latent geworden, erledigt sich durch den auf S. 411 unter 1a und 1b geschilderten Versuch. Der Stamm coli 88 bindet sein eigenes Lysin weder bei hohen noch bei tiefen Temperaturen.

an den von d'Herelle selbst angegebenen Richtlinien prüfen zu können.

Im Sinne von d'Herelles Parasitentheorie ist unser Shiga-Stamm für die Spontanlysine ein noch besserer Nährboden als der Stamm Coli 88. Bei einer Einsaat von einem Bakteriophagen in 10 ccm Shiga-Bouillon erhält man nach Ablauf von 24 Std. etwa 1 Million Bakteriophagen pro 0,05 ccm, während der Coli 88-Stamm durchschnittlich nur 30000 produziert. Mittels dieses Stammes wurde die Aktivierung versucht.

Versuch: Es werden 48 Std. alte 10,5°- (Einsaat = 1 Million Keime pro Kubikzentimeter) bzw. 14 Tage alte 8,75°-Coli-88-Kulturen, die den inaktiven, avirulenten Bakteriophagen enthalten sollen, 40 Min. auf 57,5° erhitzt oder durch (neue) Berkefeld-Kerzen filtriert, je 2 ccm mit 8 ccm Bouillon und 0,05 ccm einer Shiga-Aufschwemmung versetzt, 24 Std. bei 37° bebrütet. 2 ccm der erneut bei 57,5° abgetöteten Kultur dienen zur Ueberimpfung. Der Versuch wird sechsmal wiederholt.

Weder auf diese Weise noch durch Einschaltung von Filtrationen erreicht man indessen eine Lysinbildung. Es ist damit der Beweis erbracht, daß in den Kulturen auch keine abgeschwächten oder inaktiven Formen der Bakteriophagen vorhanden waren.

In diesem Zusammenhang ist daran zu erinnern, daß d'Herelle und Flu Versuche geschildert haben, in denen lysinfrei gemachte Kulturen sich spontan nicht wieder lysogen machen ließen. Sie gingen so vor, daß sie aus Spontanlysine bildenden Kulturen von einzelnen Agarkolonien abimpften und diese auf Lysinproduktion prüften. Bildeten sie keine Bakteriophagen, so wurden sie weitergezüchtet. Bei diesen Stämmen gelang nun auch späterhin nie der Bakteriophagennachweis. d'Herelle hält dieses Ergebnis für so konstant, daß er schreibt: „La purification montre sans discussion possible que le principe bactériophage constitue une impureté, au sens bactériologique de ce mot." Auf die von Otto und uns früher erhobenen Befunde über das Auftreten von Spontanlysinen in bis dahin nicht lytisch wirkenden 16-stünd. Bouillonkulturen war schon hingewiesen worden. Neuerdings hat nun auch Bordet im Plattenversuch gegensätzlich zu d'Herelle und Flu gezeigt, daß man sehr wohl Kolonien isolieren kann, die anfangs keine Lysine produzieren, deren Deszendenten sie aber später doch wieder entstehen lassen, wodurch als Erweiterung der Befunde von Otto und uns eine Spontanlysinbildung auch auf festen Nährböden sichergestellt ist. Die Unterschiedlichkeit in den Angaben von d'Herelle und Flu einerseits sowie Bordet andererseits findet übrigens eine gewisse Ergänzung durch eine Mitteilung von Lisbonne und Carrère, welche angaben, daß ein Coli-Stamm in dem einen Laboratorium zur Spontanlysinproduktion gebracht werden konnte, während er sich in dem anderen passiv verhielt. Vielleicht sind hier Unterschiede in den Nährmedien beteiligt. So beschrieb da Costa Cruz ein System Bakterium + Bakteriophagum, das in Martinbouillon bis P_H 6,5, in gewöhnlichem Peptonwasser aber erst bei P_H 8,3 eine Bakteriophagenwirkung erkennen ließ.

Einen besonderen Einblick in die Lysinbildung gewährt eine kleine Veränderung des vorigen Versuchs.

Versuch: Es wird eine lysinfreie Kultur, die 920 Millionen Keime pro Kubikzentimeter enthält, mit Bouillon 1:1, 1:20, 1:200 und 1:2000 verdünnt. Von

jeder Verdünnung werden 2 ccm 2 Std. lang auf 37° erwärmt. Die Größe der Lysinbildung bei den verschiedenen Keimkonzentrationen ist aus Fig. 4 abzulesen.

Dieser Versuch spricht gegen jene Theorie, welche die Bakteriophagen als Produkt einer Autolyse ansieht. Wenn wir unter Autolyse die Summe aller Fermentprozesse verstehen, die nach dem Tode der Zelle einsetzen und zum weitgehenden Abbau ihrer Eiweißkörper, Fette und Kohlehydrate führen, so mußte, gleiche H· vorausgesetzt, bei der größten Keimzahl die ausgiebigste Autolyse und mithin nach der Auffassung der Autolyseanhänger auch die stärkste Lysinbildung erwartet werden. Der Versuch ergibt aber, daß die Lysinbildung in dem Röhrchen mit der größten Keimeinsaat 20mal geringer ist als in dem Röhrchen mit der 10fach niederen Keimeinsaat und daß sie sogar noch von der 1000fachen Ausgangsverdünnung erreicht wird. Es werden in 2 Std. also gleiche Lysinmengen von 460 000 und von 460 Mill. Keimen gebildet. Nun wissen wir, daß die Absterbekurve der Bakterien um so steiler verläuft, je größer die Bakterieneinsaat ist; die Anzahl der toten und zur Autolyse befähigten Bakterien ist daher bei 460 Mill. sicher größer als bei 460 000. Wenn nun die geringere Keimzahl trotzdem die gleiche Lysinproduktion erzielt wie die 1000fach höhere, so kann die Lysinbildung nicht in autolytischen, an den toten Bazillenleibern ablaufenden Vorgängen ihre Ursache haben. Was die Kultur mit 460 000 Keimen Einsaat (deren Lysinmenge sich in späteren Stunden übrigens weit über die von der 1:1 verdünnten Coli-Bouillon erhebt) auszeichnet, ist Wachstum, nicht Stillstand und Absterben. So muß geschlossen werden, daß auch die Spontanlysinbildung als ein Zeichen höchster Aktivität der lebenden Zelle, nicht als das Produkt eines Zerfallprozesses anzusehen ist. Sie entspricht hierin der Lysinproduktion im System Bakterium + Bakteriophagum, bei der ebenfalls der Vorgang der Lysinentstehung nach den Versuchen von Doerr und Berger keines Bakterienzerfalls bedarf.

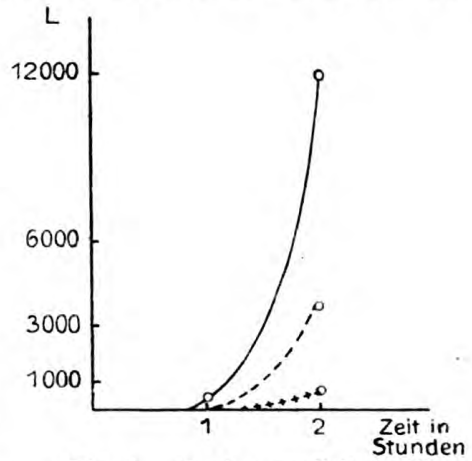


Fig. 4. Abszisse = Zeit in Stunden. Ordinate = Anzahl der Bakteriophagen pro. 0,05 ccm
——— = Konzentration 1:20
------ = „ 1:200
+++ = „ 1:2000 u. 1:1!

Die Keimzahlen betrugen in den 4 Versuchsreihen

zu Beginn:	460;	46;	4,6;	0,46 Mill. Keime
nach 1 Std.:	520;	90;	7,2;	0.7 „ „
„ 2 „ :	580;	200;	40,0;	4,1 „ „

V.

Die bisherigen Ergebnisse lassen es noch ungeklärt, durch welche Vorgänge die Lysinbildung ausgelöst wird. Um sie völlig zu unterdrücken, war eine Herabsetzung der Temperatur auf etwa 9° erforderlich. Hierdurch wurde aber gleichzeitig die Generationsdauer so verlangsamt, daß sowohl in der ungenügenden Temperatur als auch in der geringen Teilungsgeschwindigkeit die Ursache der verringerten oder völlig aufgehobenen Lysinentwicklung gesehen werden konnte. In diesem

Zusammenhang hat Doerr auf die Möglichkeit hingewiesen, daß an den Teilungsstellen des Bakteriums Wundflächen entstehen könnten, durch welche die Lysinteilchen leichter passieren als durch den intakten übrigen Bakterienleib. Diese Erleichterung für den Eintritt der Bakteriophagen würde bei Spontanlysinen auch für den Austritt in das Kulturmedium anzunehmen sein. Bei einer schnellen Teilung wäre eine stärkere Ausprägung dieser Wundflächen wahrscheinlich, ein leichterer Lysindurchtritt ermöglicht und so in der Bakterienteilungsgeschwindigkeit eine Ursache für das Austreten der Bakteriophagen in die Nährlösung gefunden. Es läßt sich aber zeigen, daß die Größe der Lysinmenge in der Kulturbouillon in ausschlaggebender Weise nur von der Temperatur beeinflußt wird. Der Beweis dafür ist dann erbracht, wenn es bei einer für die Bakterienentwicklung optimalen Temperatur gelingt, die Bakterienvermehrung durch eine Veränderung des Nährbodens so zu hemmen, daß die Keimzahl nicht größer ist als in einem zweiten Versuch, bei dem der Nährboden unverändert, wohl aber die Temperatur weniger optimal ist, und wenn dann eine Differenz in der Lysinbildung beider Versuche festgestellt werden kann.

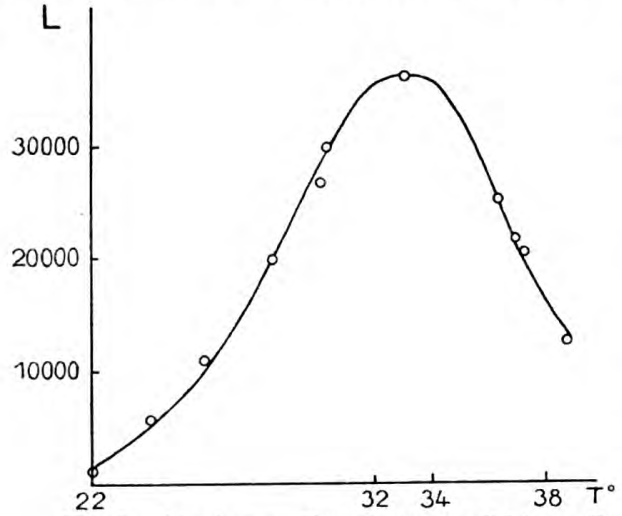


Fig. 5. Abszisse = Temperatur in Celsius. Ordinate = Anzahl der Bakteriophagen pro 0,05 ccm.

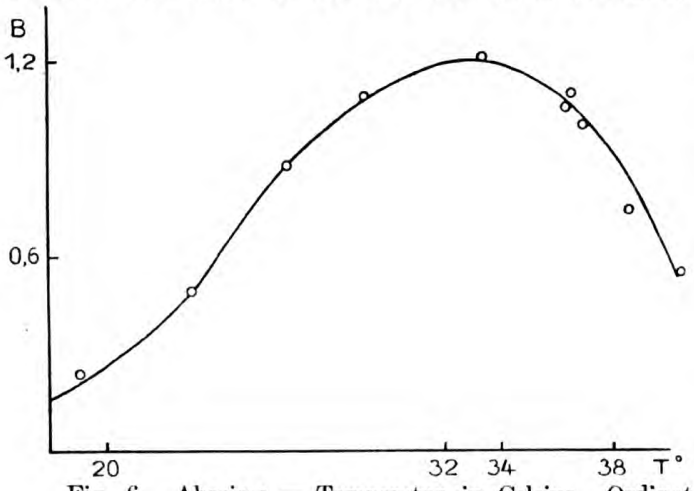


Fig. 6. Abszisse = Temperatur in Celsius. Ordinate = Anzahl der Bakterien pro 1 ccm in Milliarden.

Versuch: In ein Reagenzglas werden nacheinander gegeben: 2,1 ccm n/10 NaOH, 8 ccm Bouillon PH 7,4, 0,8 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, 0,1 ccm einer lysinfreien 48stünd. Coli-Bouillonkultur (10,5°). Nach dem Vermengen hat die Bouillon ein PH von 8,4 und enthält 10^6 Keime pro Kubikzentimeter. Ein zweites Röhrchen enthält statt der Natronlauge 2,1 ccm 0,85proz. Kochsalzlösung, wird aber nicht wie das erste Röhrchen bei 33°, sondern bei 16° C gehalten. Nach 24 Std. beträgt der Keimgehalt in beiden Röhrchen 65 Millionen pro Kubikzentimeter. Die Entwicklungsgeschwindigkeit ist in beiden Fällen gleich. Während aber bei 16° weniger als 10 Bakteriophagen pro 0,05 ccm gebildet werden, sind bei 33° 650 pro 0,05 ccm nachweisbar. Die Spontanlysinbildung ist also in erster Linie

von einer geeigneten Temperatur abhängig; die Bakterienentwicklungsgeschwindigkeit spielt eine untergeordnete Rolle.

Der überwiegende Einfluß der Temperatur auf die Lysinbildung geht auch aus 2 Kurven hervor, welche die bei verschiedenen Temperaturgraden gewachsenen Bakterienmengen und die Zahl der von ihnen gebildeten Bakteriophagen zu vergleichen gestatten.

Versuch: Eine 48stünd. bakteriophagenfreie Coli 88-Kultur (10,5°) wird mit steriler Bouillon so verdünnt, daß sie pro Kubikzentimeter 1100 Keime enthält. Von dieser Verdünnung werden je 2 ccm in Reagenzgläser gegeben, diese bei Temperaturen von 15—40° C aufbewahrt. Kontrolle der Temperaturhöhe durch Maximum- und Minimumthermometer. Nach 24 Std. werden jedem Röhrchen zur Bestimmung der Keimzahl 0,5 ccm entnommen (Fig. 6), der Rest 40 Min. lang auf 57,5° erhitzt und die Lysinzahl im Plattentropfversuch bestimmt (Fig. 5). Jenseits 40° waren Kurvenpunkte wegen der Unzuverlässigkeit unserer Thermoregulatoren nicht genau produzierbar. Sie sind deshalb fortgelassen.

Die Kurven zeigen, daß das Maximum der Lysinproduktion wie das des Bakterienwachstums bei 33° liegen. Während aber die Bakterienkurve ein ziemlich breites Optimum aufweist, ist es bei der Lysinkurve ausgesprochen schmal. Beispielsweise erfährt die Bakterienzahl bei 36,5° im Vergleich zum Optimum nur eine Verringerung um 10 Proz., die Lysinzahl aber um 30 Proz. Das Absinken der Lysinzahl beruht dabei nicht etwa auf einer größeren Empfindlichkeit der Lysine bei 36,5°. Zwischen 33 und 38° ist die Lysineinbuße bei einer Einwirkungszeit von 24 Std. prozentual gleich groß.

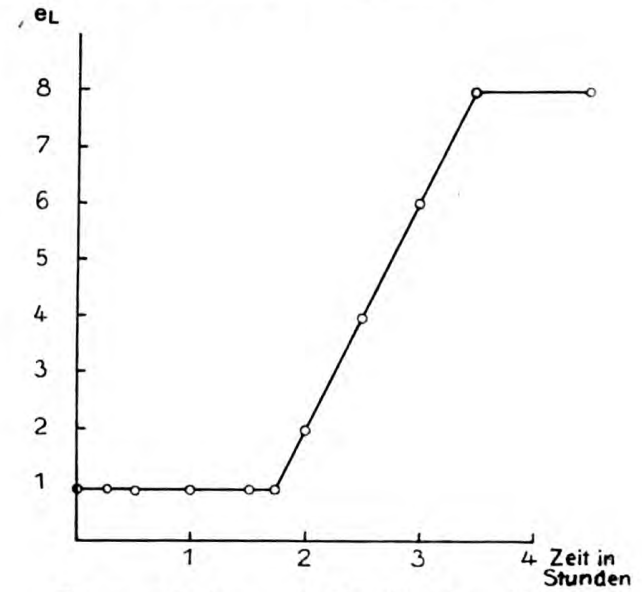


Fig. 7. Abszisse = Zeit in Stunden. Ordinate = Logarithmus der Lysinzahlen.

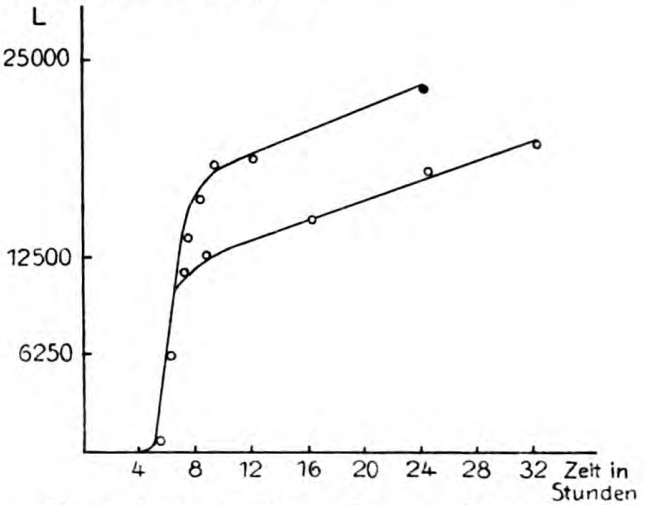


Fig. 8. Abszisse = Zeit in Stunden. Ordinate = Anzahl der Bakteriophagen pro 0·05 ccm. Wiedergabe zweier Versuche.

Es bleibt noch zu untersuchen, wie sich die Bildungskurve der Lysine bei konstanter Temperatur gestaltet. An zahlenmäßigen Darstellungen existieren Arbeiten von Doerr und Grüninger, Meuli, Gratia, Otto und Munter. Die Autoren

führten ihre Untersuchungen an lyosensiblen Bakterien aus, denen Lysine zur Einleitung der Bakteriophagenreaktion zugesetzt wurden. Kurve 7 ist der Arbeit von Doerr und Grüninger entnommen.

In bezug auf die Spontanlysine liegen auch hier keine Untersuchungen vor.

Versuch: Eine 48stünd. lysinfreie, bei 10,5° gewachsene Bouillonkultur des Coli 88 wird mit steriler Bouillon so verdünnt, daß in 1 ccm 1200 Keime vorhanden sind. Von dieser Coli-Bouillon werden je 2 ccm in Reagenzgläser gegeben, diese im Wasserbad auf 36,5° vorgewärmt und dann weiter in einem Brutschrank von 36,5° bebrütet. In bestimmten Zeitabständen wird jedesmal ein Röhrchen entnommen, 0,5 ccm zur Bestimmung der Keimzahl verwendet, der Rest 40 Min. auf 57,5° erhitzt. Bestimmung der Lysinteilchen im Plattentropfversuch (Fig. 8).

Um die Spontanlysinkurve mit der Kurve von Doerr und Grüninger vergleichen zu können, müssen die Spontanlysinwerte logarithmiert werden. Man erhält dann folgenden Verlauf (Fig. 9).

Die zugehörige logarithmierte Bakterienkurve gibt folgendes Bild (Fig. 10).

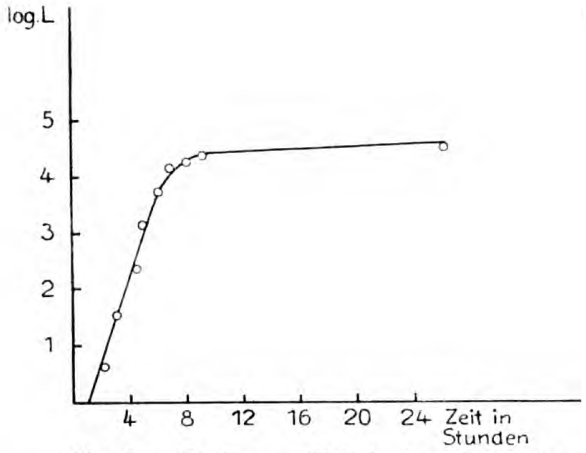


Fig. 9. Abszisse = Zeit in Stunden. Ordinate = Logarithmus der Lysinzahlen.

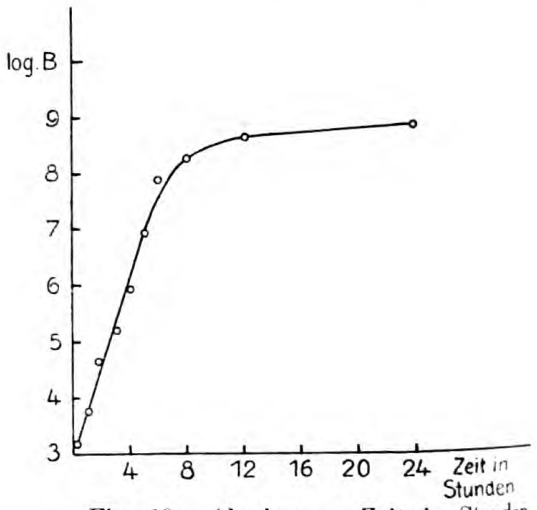


Fig. 10. Abszisse = Zeit in Stunden. Ordinate = Logarithmus der Bakterienzahlen.

Die Kurven 7 und 9 ähneln einander sehr. Ihre Unterschiede im Endteil beruhen auf 2 Faktoren. Einmal wird bei den Spontanlysinen die höchste Bakteriophagenzahl erst nach 72 Stunden angetroffen, da bis zu diesem Zeitpunkt noch eine Bakterienvermehrung stattfindet. Im System Bakterium + zugesetztem Bakteriophagen ist dagegen das Maximum der Keimzahl bereits nach wenigen Stunden erreicht. Zum anderen Teil können die verschiedenen Titrationsmethoden Unterschiede bedingt haben. Es ist daran festzuhalten, daß die Plattenmethode die genauesten Zahlenwerte gibt. Wenn z. B. die Spontanlysinkurve auf Grund der Plattentitration nach 24 Std. 14000, nach 48 Std. 36000, nach 42 Std. 54000 und nach 96 Std. 22000 Lysinteile pro 0,05 ccm angibt, so würde die Bouillonverdünnungsmethode diese recht unterschiedlichen Werte stets mit dem Verdünnungstiter 10^{-6} registrieren. Man wird daher bei Titrationen der Plattentropfmethode den Vorzug geben müssen, wie es auch von Otto und Munter in ihrem letzten Referat befürwortet worden ist.

Die Endpunkte der Spontanlysinbildungskurve speziell in Bezug auf die Frage der Konstanz der Endkonzentration wurden noch nicht

untersucht, da sie bei Spontanlysinbildnern nicht die Bedeutung besitzen wie bei dem System Bakterium plus Bakteriophagen.

Es wurde darauf hingewiesen, daß wir in der Bildung der Spontanlysine einen physiologischen Vorgang des Bakterienlebens erblicken[1]), und wir glauben, daß in der recht bemerkenswerten Uebereinstimmung des Verlaufs der logarithmierten Bakterien- mit der Spontanlysinbildungskurve (Fig. 9 und 10) eine Bestätigung dieser Auffassung sehen zu können. Dementsprechend halten wir die in Fig. 5 und 9 dargestellten Bildungskurven der Lysine in Abhängigkeit von der Zeit und Temperatur nur für Spezialfälle anderer Leistungen des Bakterienorganismus. Die Kurven decken, unabhängig von Lysinzusätzen, die Beziehung

Temperatur ⟶ Lysinmenge
und Zeit ⟶ Lysinmenge

auf, lassen also über die qualitativen Leistungen des Bakteriums hinaus einen quantitativen Einblick in die Bildung noch nicht näher klassifizierbarer Zellprodukte als Funktionen der Zeit und Temperatur gewinnen. Nicht näher klassifizierbar deswegen, weil sowohl der Angriffspunkt als auch die Reaktionsprodukte der Einwirkung des Bakteriophagen auf das Bakterium unbekannt sind.

Als zweites positives Ergebnis ist zu werten, daß die bisher nur angedeutete Möglichkeit einer Übertragung krankhafter Zustände durch unbelebte Substanzen, die Otto für das Karzinom, Doerr für das Hühnersarkom und neuerdings Doerr und Zdansky für die Encephalitis epidemica erörtern, durch die Widerlegung der Parasitentheorie d'Herelles nunmehr für Einzellige (am System Bakterium + Lysin) als bewiesen anzusehen ist. Man hat die Ansicht gehört, daß das d'Herellesche Phänomen nie die ihm zuteil gewordene Beachtung gefunden haben würde, wenn nicht die Behauptung von der Virusnatur aufgestellt worden wäre. Diese Einstellung bedeutet wohl eine Unterschätzung der Bedeutung des unbelebten Zustandes der d'Herelle-Lysine. Sollte es sich erweisen, daß diese Übertragbarkeit krankhafter Zellvorgänge durch unbelebte Materie sich auch auf das Protozoen- und Metazoenreich erstreckt, dann werden die Perspektiven ebenso weite sein, als wenn der Bakteriophage ein „être vivant" gewesen wäre.

Zusammenfassung.

Die Versuche erstreckten sich auf die Untersuchung der Spontanlysinbildung unter dem Einfluß variierter Kulturbedingungen. Untersuchungsobjekt war der Spontanlysinbildner Coli 88 (souche naturellement lysogène nach d'Herelle). Variiert wurden Nährboden, Temperatur und Zeit.

A. Nährboden.

Auch unter einfachsten Ernährungsverhältnissen treten bei Spontanlysinbildnern konstant Lysine auf.

B. und C. Temperatur und Zeit.

1) Der Stamm Coli 88 bildet in guten Nährböden bei einer Tem-

1) Die auf Grund der Untersuchungen von Doerr als pathologisches Geschehen deutbare Auswirkung der Bakteriophagen auf lysosensible Bakterien ist natürlich von dieser Begriffsfestlegung, die nur die Bildung der Lysine betrachtet, zu trennen.

peratur von 8,75—9° C nie Bakteriophagen. Auch die Passagezüchtungen sind, trotz hoher Bakterienvermehrung, stets bakteriophagenfrei, bakteriophagensteril. — 2) Die Aussage einer Bakteriophagenfreiheit der 9°-Kulturen stützt sich auf die Möglichkeit, a) einen einzigen Bakteriophagen in 10 ccm Flüssigkeit nachzuweisen, b) den Verlust eines einzigen Bakteriophagen durch eine Erhitzung während 40 Min. auf 57,5° zu vermeiden, c) das Nichtvorhandensein sogenannter latenter Formen in den 9°-Kulturen mittels des Virulenzsteigerungsversuchs d'Herelles an einem als „Nährboden" besonders geeigneten Stamm zu beweisen. — 3) Bringt man bakteriophagenfreie 9°-Kulturen des Coli 88 in Temperaturen von 37° C zurück, so bilden sie im Laufe von 30 bis 45 Min., je nach der Bakterienkonzentration, Bakteriophagen. — 4) Diese durchaus typischen Bakteriophagen sind im bakteriophagensterilen Reaktionsraum entstanden; die Bakteriophagen können daher keine Parasiten sein. — 5) Die Bildung der Lysine in vordem lysinfreien Kulturen ist, gleiche H' vorausgesetzt, nicht proportional der Anzahl der vorhandenen toten Bakterien, wie es bei einer Entstehung der Bakteriophagen auf Grund autolytischer Prozesse annähernd der Fall sein müßte. Auch die Spontanlysinbildung ist ein Zeichen höchster Aktivität der lebenden Zelle, kein Zerfallsvorgang. — 6) Die Spontanlysinbildung wird in erster Linie regiert von der Temperatur. Die Bakterienentwicklungsgeschwindigkeit spielt eine sekundäre Rolle. — 7) Lysinbildungs- und Bakterienvermehrungsoptimum liegen für den Coli 88 beide bei 33° C. — 8) Die Spontanlysinbildungskurven in Abhängigkeit von Zeit und Temperatur werden als physiologische Spezialfälle anderer Leistungen des Bakterienorganismus gedeutet. — 9) Durch die Widerlegung der Parasitentheorie d'Herelles ist bewiesen, daß es bei Einzelligen eine Übertragung krankhafter Zustände durch unbelebte Materie gibt.

Literatur.

Bail, Wien. klin. Woch. 1921. S. 237. — Bordet, Compt. rend. Soc. Biol. T. 90. 1924. p. 96. — Braun u. Cahn-Bronner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 1. — Brutsaert, Compt. rend. Soc. Biol. T. 90. 1924. p. 646. — Ders., Ibid. T. 89. 1923. p. 1175. — Ciuca, Ibid. T. 90. 1924. p. 521. — da Costa Cruz, Ibid. T. 90. 1924. p. 878. — Ders., Ibid. T. 89. 1923. p. 391. — Ders., Ibid. T. 90. 1924. p. 694. — Doerr, Klin. Woch. 1922 S. 1498 u. 1537. — Ders., Schweiz. med. Woch. 1923. S. 1009. — Doerr u. Berger, Ztschr. f. Hyg. Bd. 79. 1923. S. 422. — Doerr u. Grüninger, Ibid. Bd. 97. 1922. S. 209. — Doerr u. Rose, Schweiz. med. Woch. 1924. S. 10. — Doerr u. Zdansky, Ztschr. f. Hyg. Bd. 102. 1924. S. 512. — Flu, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 362. — Gildemeister, E., Ibid. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 181. — Gildemeister u. Herzberg, K., Ibid. Bd. 91. 1923. S. 13. — Dies., Ibid. Bd. 91. 1924. S. 228. — d'Herelle et Pozerski, Compt. rend. Soc. Biol. T. 85. 1921. p. 1011. — d'Herelle Le Bactériophage, übers. von Pfreimbter, Sell u. Pistorius. 1922. S. 14. — d Herelle Rev. pathol. comparée et d'hygiène gén. 1923. No. 238. p. 11. — Lisbonne et Carrère, Compt. rend. Soc. Biol. T. 89. 1923. p. 865. — Dies., Ibid. T. 90. 1924. p. 265. — Otto u. Munter, Ztschr. f. Hyg. Bd. 98. 1922. S. 32. — Dies., Weichards Ergebn. Bd. 6. 1923. — Proskauer u. Beck, Ztschr. f. Hyg. Bd. 18. 1894. S. 128. — Rona u. Bach, Biochem. Ztschr. Bd. 118. S. 232. — Rona u. Reinicke, Ibid. Bd. 118. S. 213.

Nachdruck verboten.

Ueber die sogenannten Pyocyaneus-Bakteriophagen.

[Aus dem Städtischen Hygienischen Universitätsinstitut in Frankfurt a. Main (Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. M. Neißer).]

Von Dr. med. **Hans Lisch.**

Mit 1 Tafel.

Eigentümliche lytische Erscheinungen sind beim Bacillus pyocyaneus schon mehrfach beobachtet und beschrieben worden. Okuda behandelt in seiner Arbeit „Pyocyaneus-Bakteriophagen“ sehr ausführlich dieses Thema. Er beobachtete, wie vor ihm schon Čanžik im Rasen älterer Laboratioriumsstämme silbrig glänzende, meist runde Stellen, innerhalb deren das Wachstum der Bazillen aufgehört hatte. Andererseits erreichte er mit Zentrifugaten solcher Stämme bei einem anderen nicht Silberglanz bildenden Stamm vollständig sterile, kreisrunde Löcher ohne Silberglanz. Alle diese Erscheinungen, die Silberbildung und die Lochbildung ohne Silberbelag, faßt er als Bakteriophagenwirkung im Sinne d'Herelles auf. Aehnliche Feststellungen machten auch Lode, sowie Handuroy und Peyre. Sie fanden Pyocyaneus-Stämme, die das gleiche Aussehen hatten, wie die von Čanžik und Okuda beschriebenen, die also Silberglanz bildeten und nach Filtration bei anderen Stämmen Bakteriophagenlöcher hervorriefen.

Zweck der vorliegenden Arbeit ist es, festzustellen, daß zwar manche Aehnlichkeit besteht zwischen Silberglanz einerseits und „taches vièrges“ andererseits, daß es aber trotzdem verschiedene Vorgänge sein müssen, die hierbei eine Rolle spielen.

Meine Versuche erstreckten sich auf 8 verschiedene Stämme, die sowohl mikroskopisch als auch kulturell sich einwandfrei als Bac. pyocyaneı erwiesen. Bei der Geißelfärbung zeigten alle die dem Pyocyaneus eigene, einzelne, endständige Geißel. Die Kulturen stammten teils aus der Sammlung des Hygien. Instituts, teils waren sie frisch aus Stuhl und Badewasser herausgezüchtet worden. Es sei hierbei bemerkt, daß es uns, im Gegensatz zu anderen Berichten, ziemlich häufig gelungen ist, in eingesandtem Stuhlmaterial Pyocyaneus zu finden und herauszuzüchten.

Es fanden sich nun bei 5 der oben erwähnten 8 Stämme, älteren sowohl als auch jungen, innerhalb des Rasens eigentümliche „Einsenkungen“, meist von rundlicher Form, die mit einem silbrig glänzenden Häutchen überzogen waren. Die mikroskopische Betrachtung dieses schon mehrfach beschriebenen Silberbelags ergab eine Menge feinster Kristallbüschel und Drusen. Gleichzeitig fiel auf, daß der Farbstoff jener Stämme einen dunkelgrünen bis schwarzen Ton hatte, im Gegensatz zu solchen, die, ohne Silberbelag zu bilden, hellgrüne Farbe produzierten. Impfte man von den Silberstellen auf Schrägröhrchen ab, so entstanden frühestens nach 24 Std., manchmal auch später, in dem dichten, glänzenden Rasen nach und nach kleine, kreisförmige Einsenkungen, die sich alsbald wieder silbrig überzogen und schließlich den größten Teil des Rasens bedeckten. Gleichzeitig nahm der bis dahin kräftig-grüne Farbstoff einen mehr dunkleren Ton an. Bild 1 und 2 der Tafel geben den oben geschilderten Vor-

gang wieder. Bild 1 zeigt die Schrägkultur im auffallenden Licht photographiert, so daß der metallische Glanz des Belages sichtbar wird. Bild 2 ist eine Aufnahme desselben Röhrchens im durchfallenden Licht und gerader Stellung. Der Silberglanz ist nicht sichtbar. Man kann lediglich die Konturen der rundlichen Einsenkungen im Rasen beobachten. Nicht zu verwechseln sind diese mit den später zu beschreibenden sterilen „Löchern", den sogenannten taches vièrges d'Herelles. Zur genauen Betrachtung der Bilder empfiehlt sich die Anwendung einer Lupe.

Machte man nun weiterhin von einer solchen Schrägkultur einen Agarplattensatz, so ergab sich auch hier das gleiche Bild. Besonders deutlich wurde das Phänomen auf der 3. Platte des Satzes, wo nur vereinzelte Kolonien von stattlicher Größe gewachsen waren. Auch sie wandelten sich entweder zum Teil oder ganz in das silberne Häutchen um, wie aus Abbildung 3 der Tafel hervorgeht. Bei dieser Aufnahme ist die Platte gleichfalls so gestellt, daß das Licht schräg auftrifft und somit den Glanz hervortreten läßt. Bei aufmerksamer Betrachtung des Bildes kann man an den Kolonien deutlich 3 verschiedene Stadien bezüglich der Ausbreitung des Silberbelages erkennen: 1. Kolonien, die fast ganz bis auf einen kleinen Randstreifen ersetzt sind; 2. Kolonien, die noch zum größten Teil unversehrt sind. Doch sieht man schon an der Peripherie kleine Einkerbungen, „angenagte" Stellen, die sich alsbald vergrößern und schließlich eine Umwandlung hervorrufen, so daß diese Kolonien den erstgenannten entsprechen. 3. Kolonien, die noch keine Zeichen einer Beeinflussung tragen. Impft man die letzteren ab, so bleiben sie einige Zeit „resistent", bis schließlich doch eines Tages die ersten Silberpünktchen sichtbar werden.

Es muß sich demnach hier um ein Agens handeln, das jedesmal bei der Ueberimpfung der Bakterien mitverschleppt wird und sich im neu heranwachsenden Rasen mitentwickelt, ein Phänomen also, das ganz dem von Twort beschriebenen ähnelt. Letzterer hatte schon 1914/15 in Kulturen von Mikrokokken, die aus einer mit Glyzerin versetzten Kalbvakzine stammten, Kolonien mit eigenartigen glasigen Flecken gefunden, welche alsbald die ganze Kolonie in eine transparente Masse verwandelten, innerhalb deren jegliches Wachstum aufgehört hatte. Wurden Kolonien mit nur wenig Transparenz ausgestrichen, so entstanden wieder opake und durchscheinende Kolonien. Er fand ferner, daß das wirksame Agens durch die Porzellankerze filtrierbar ist, und vertritt die Anschauung, daß es sich um ein autolytisches Prinzip handelt, das von den Bakterien selbst gebildet wird und sich von Generation zu Generation fortpflanzen läßt. —

Unabhängig und ganz verschieden davon sind Erscheinungen beim Bac. pyocyaneus, die deutlich an die von d'Herelle gemachten Beobachtungen erinnern. Bevor ich auf das hierbei angewandte Verfahren näher eingehe, möchte ich noch einiges Bemerkenswerte über die 8 benutzten Stämme vorausschicken. Wie noch erinnerlich, bildeten 5 dieser Stämme jenen oben erwähnten Silberbelag. Gleichzeitig zeichneten sie sich durch besonders intensive Farbstoffbildung aus. Die 3 anderen Stämme haben niemals eine Spur Silberbelag erkennen lassen, auch war ihre Farbstoffproduktion sehr gering. Jeder dieser 8 Stämme wurde nun der Reihe nach untersucht, wobei ich folgendermaßen vorging:

Eine Schrägkultur wurde mit 5 ccm Aq. dest. abgeschwemmt und durch die Chamberland-Kerze filtriert. Je 1 ccm des gewonnenen hellgrün gefärbten, klaren Filtrats wurde sodann mit je 10 ccm flüssigen und wieder abgekühlten Agars gut gemischt und zur Platte ausgegossen. Auf diese Weise wurden von jedem Filtrat 8 Platten hergestellt. Als Kontrolle dienten 8, auf die gleiche Art gegossene Platten, wobei jedoch das Filtrat durch halbstündiges Erhitzen auf 100° inaktiviert worden war. Nun wurde jede der Platten der Reihe nach beimpft mit einer Oese Bouillon, die mit je 1 der 8 Stämme leicht getrübt war. Es waren also im ganzen von dem Filtrat jedes Stammes 16 Platten, 8 mit aktivem und 8 mit inaktivem Filtrat.

So wurden nacheinander sämtliche Stämme durch die Kerze geschickt und ihre Filtrate in der angegebenen Weise untersucht. Die Ergebnisse nach 24stündig. Bebrütung bei 37° waren kurz folgende: Die aktiven Filtrate von 5 Stämmen, und zwar von solchen mit und auch solchen ohne Silberbelag, riefen bei anderen Stämmen innerhalb des Rasens zahlreiche kleine, kreisrunde „Löcher" hervor, die steril waren und im Gegensatz zu den „Einsenkungen" niemals sich mit dem silbernen Häutchen überzogen. Auch traten sie nicht nach und nach auf, sondern blieben von vornherein als scharfbegrenzte Aussparungen in dem sonst üppig gewachsenen Rasen bestehen. Bild 4 der Tafel gibt eine solche Platte mit den typischen taches vièrges wieder, die sich in nichts unterscheiden von denen, die d'Herelle z. B. im Rasen von Dysenteriebazillen gefunden hat. Die Unabhängigkeit dieser Löcher von den silbern belegten Einsenkungen ergibt sich also daraus, daß wirksame Filtrate auch von Stämmen ohne Einsenkungen gebildet werden.

Weiterhin ging aus den oft wiederholten Versuchen hervor, daß wirksame Filtrate nicht auf alle Pyocyaneus-Stämme wirken, und daß umgekehrt auch nicht jeder Stamm ein solches lieferte. Bildete ein Stamm ein wirksames Lysat, so war es bisweilen, aber durchaus nicht immer, gegen ihn selbst im obigen Sinne wirksam. Ferner wurden auch einzelne Stämme, die selbst ein gutes Lysat lieferten, weder vom eigenen noch von anderen Lysaten angegriffen.

Es wurde mehrfach versucht, die weiteren Charakteristika des d'Herelleschen Bakteriophagen mit fortgezüchteten Löchern hervorzurufen, aber es gelang weder die Aufhellung der gewachsenen, getrübten Bouillon noch die bekannte gewaltige Steigerung der Wirksamkeit der Lysate.

Zusammenfassung.

Bei verschiedenen Stämmen des Bacillus pyocyaneus zeigte sich, wie aus den hier kurz wiedergegebenen Versuchen hervorgeht, 2 voneinander unterscheidbare Erscheinungen, die dem Twortschen und dem d'Herelleschen Phänomen entsprechen. Von Wichtigkeit ist, daß ein Uebergang der beiden Phänomene ineinander niemals beobachtet werden konnte. Es erweckt den Anschein, als ob es sich bei der einen Erscheinung um Lösung der älteren Individuen, bei der anderen um Hemmung des Wachstums bzw. der Teilung handelt; aber diese beiden Stoffe scheinen nicht identisch zu sein.

Literaturnachweis.

d'Herelle, Le bactériophage. Son rôle dans l'immunité. — C. W. Twort, An investigation on the nature of the ultramicroscopic viruses. (Lancet. 2. 1915. p. 1241.) — Okuda, Ueber Pyocyaneusbakteriophagen. (Arch. f. Hyg. Bd. 92. 1923. S. 109.) — Lode, Hemmung und Bakteriophagenwirkung beim Bac. pyocyaneus. (Arch. f. Hyg. Bd. 93. S. 267.) — Handuroy u. Peyre, C. R. Soc. Biol. T. 88. 1923. p. 688.

Nachdruck verboten.

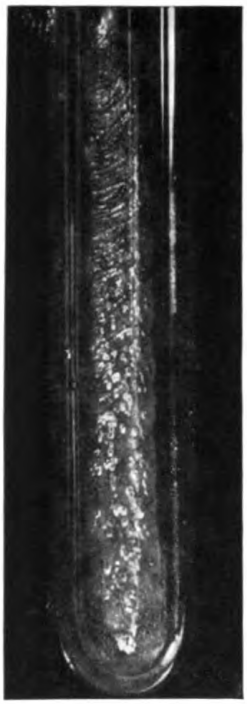
Vergleichende Untersuchungen von Coli-Dysenterie- und Paratyphusbakteriophagen.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag (Vorstand: Prof. Oskar Bail).]

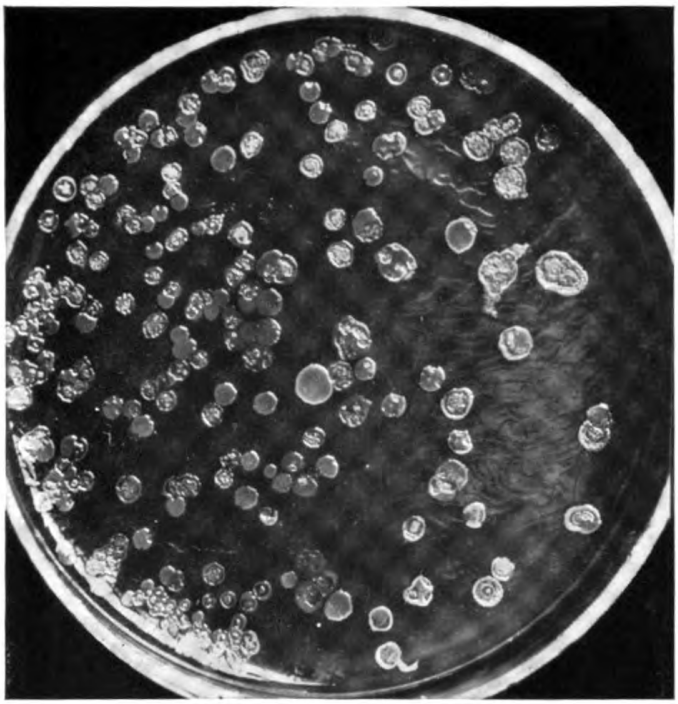
Von **Friedrich Hoder.**

Die Tatsache der Vielheit der Bakteriophagen kann heute als erwiesen gelten, ebenso die Möglichkeit ihrer Reinzüchtung und der Weiterführung von Reinkulturen. Die Reinzüchtung ist in vielen Fällen vollkommen einwandfrei gelungen, und die gewonnenen Bakteriophagen zeigten durch viele Generationen eine Stabilität, die sich am besten mit der von Bakterienreinkulturen vergleichen läßt. Je weiter ein Bakteriophage in seiner Wirkungsbreite um sich greift, desto schwieriger gestaltet sich seine Isolierung und Reinzüchtung und man muß immer gewärtig sein, nach vielen Generationen die unangenehmsten Ueberraschungen zu erleben. Die Methodik der Bakteriophagenisolierung ist heute noch eine relativ primitive. Der Untersucher hat mit den größten Schwierigkeiten zu kämpfen, die bei Gemischen polyphager Bakteriophagen fast ins Ungemessene steigen. Dennoch scheint die Hoffnung nicht unberechtigt, daß in absehbarer Zeit durch Verbesserung der Methoden auch die polyphagen Bakteriophagen einer Bestimmung wesentlich leichter zugänglich werden.

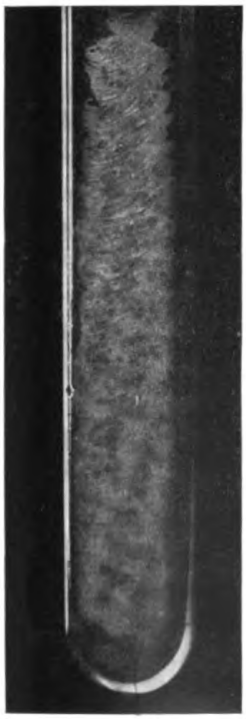
Die Bakteriophagenwirkung wird auf zweierlei Weise sinnlich wahrnehmbar: in Bouillonkulturen durch Hemmung der Trübung, oder durch Aufhellen der schon getrübten Bouillon, und auf Agarplatten durch Bildung wachstumsfreier Stellen in Bakterienrasen, sogenannter Löcher. Weder die eine noch die andere Art des Sichtbarwerdens der Bakteriophagenwirkung ist restlos geeignet, zur Bakteriophagenbestimmung zu dienen. Beiden kommt lediglich eine orientierende Bedeutung zu. Das geht schon aus der Tatsache hervor, daß infolge von Kolloidhemmung nur kleine bis mittelgroße Löcher auf 2proz. Agar sich in große auf 0,9proz. verwandeln. Bei Benützung eines Agars von gleicher Konzentration für alle Untersuchungen wird die Lochbildung immerhin ein wichtiges Merkmal der Wirkungsweise eines Bakteriophagen bleiben und für vergleichende Untersuchungen ausgezeichnete Dienste leisten. Es liegt auf der Hand, daß die Lochgröße verschiedenen äußeren Einflüssen zugänglich ist. So werden z. B. geringe Schwankungen der Agarkonzentration, wie sie bei der Herstellung des Agars unvermeidlich sind, einen gewissen, wenn auch geringen Einfluß auf die Bakteriophagenwirkung besitzen müssen, der sich in Schwankungen der Lochgröße in verschiedenen Generationen verraten wird — eine Erscheinung, die wir bei unseren Untersuchungen wiederholt beobachten konnten.



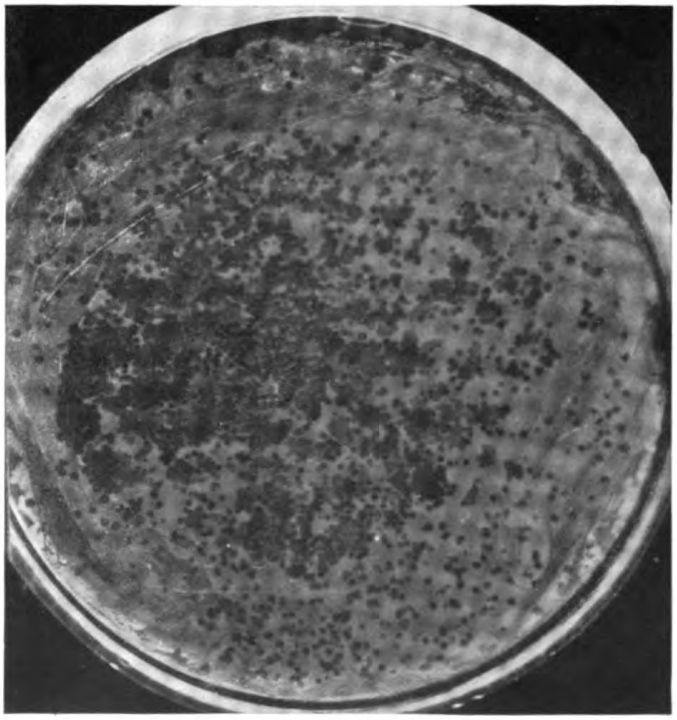
1



3



2



4

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

THE LIBRARY
OF THE
UNIVERSITY OF ILLINOIS

Selbstverständlich wird das weniger bei den große, als bei den kleine und kleinste Löcher bildenden Bakteriophagen auffällig.

Der Einfluß eines Bakteriophagen auf das Aussehen einer bewachsenen Bouillon ist ein weit weniger sicheres Kriterium seiner Wirkung. Es gibt Bakteriophagen, die die Trübung nur ganz wenig oder überhaupt nicht hemmen, und dabei doch optimal zur Vermehrung gelangen. Es wäre verfehlt, von der Stärke der Hemmung auf die Virulenz eines Bakteriophagen zu schließen. Wenn der Bakteriophage an einer, für das Leben der Bakterienzelle relativ unwichtigen Gruppe angreift, geht nur ein sehr geringer Teil der Bakterien zugrunde. Die übrigen vertragen den Verlust, werden bakteriophagenfest und vermehren sich weiter, das Eintreten der Trübung wird nicht oder nur wenig verzögert. Je klarer die Bouillon bleibt, d. h. je weniger feste Bakterien sich bilden können und je später eine Trübung durch resistente Keime eintritt, desto eingreifender muß die Wirkung des betreffenden Bakteriophagen auf die generative Substanz der Bakterienzelle sein.

Zur Feststellung der Reinheit eines Bakteriophagen stehen uns nach Bail 4 Untersuchungsmethoden zur Verfügung: 1) Die Bestimmung der Wirkungsbreite. Unter Wirkungsbreite versteht Bail die Wirksamkeit eines Bakteriophagen auf verschiedene empfindliche Keime. — 2) Die Wirkung auf die Bakterien in Bouillon und auf Agar (Lochbildung, Hemmung der Trübung). — 3) Die Bestimmung der Vermehrung des Bakteriophagen mit den empfindlichen Keimen, und — 4) die Untersuchung der Einwirkung auf gefestigte Bakterien.

Der Punkt 4) ist der wichtigste. Die Bakteriophagenfestigkeit ist eine streng spezifische. Ausnahmen, wie sie z. B. Bail erwähnt, sind nur scheinbare, und müssen auf Koppelung resp. Deckung verschiedener zusammenhängender Gruppen zurückgeführt werden. Stimmen also 2 Bakteriophagen in den 3 ersten Punkten überein und erweist sich die Festigung gegen den einen als gleichzeitige Festigung gegen den anderen, so müssen beide als identisch bezeichnet werden.

Nach Bail ist der Bakteriophage als ein Teil der generativen Substanz des Bakterienleibes aufzufassen. Man kann die generative Substanz gewissermaßen in Gruppen zerlegen, von denen jede einen bestimmten Teil des Bakterienleibes aufzubauen hat. Jeder Bakteriophage entspricht einer solchen Gruppe des empfindlichen Bazillus, die, von der Gesamtheit der Kernsubstanz losgelöst, wohl ihre aufbauende, nicht aber ihre lösende Fähigkeit verloren hat, und die jetzt ihrerseits den disponierten Keim, d. h. den Keim im Stadium der Kernteilung derart zu beeinflussen vermag, daß er die betreffende Gruppe, die dem angreifenden Bakteriophagen entspricht, verliert. Die austretende Gruppe wird jetzt zu einem neuen Bakteriophagen. Je nach ihrer Wichtigkeit für das Bakterium wird dieses den Verlust überleben und als Verlustmutante sich fortpflanzen, oder aber zugrunde gehen. Da das Keimplasma nicht über eine unbegrenzte Anzahl von Gruppen verfügen kann, so ergibt sich selbstverständlich, daß auch die Zahl der Bakteriophagen eine beschränkte sein muß. Gelingt es, eine größere Zahl von Bakteriophagen zu isolieren, so muß sich einerseits aus ihrer Wirkungsweise auf die empfindlichen Bakterien eine Analyse des Bakterienleibes ableiten lassen, andererseits muß man aber zu einer gewissen Systematik der Bakteriophagen gelangen, die für die weitere Forschung außerordentlich wertvoll sein muß. Zur Analyse des Bakterienleibes muß in erster Linie das Studium der bakteriophagenfesten Stämme führen, indem durch Festigung gegen verschiedene Bakteriophagen ihre Gruppenzahl nach Möglichkeit bestimmt wird. Weiter wird sich bis zu einem gewissen Grade die Bedeutung der einzelnen Gruppen erkennen lassen, und ihre Beziehungen zueinander. Je mehr Bakteriophagen verschiedener Wirkung man gegen denselben Keim einwirken läßt, desto schwieriger wird natürlich die Festigung. Durch das Auffinden von identischen Bakteriophagen muß sich eine Richtlinie für eine beginnende Systematik von selbst ergeben. Daß es zu diesem Zwecke von größter Wichtigkeit ist, mit sicher reinen Bakteriophagen zu arbeiten, liegt auf der Hand. Indessen gelingt es wohl immer, bei den Untersuchungen über das Verhalten der festen Bakterien durch abnorme, mehr weniger rätselhafte Befunde einem ursprünglich für rein gehaltenen Mischbakteriophagen auf die Spur zu kommen.

Zweifellos wird der Versuch einer auch nur künstlichen Systematik bei dem heutigen Stande der Bakteriophagenforschung auf große Schwierigkeiten stoßen,

zumal man sich dabei auf einem Gebiete bewegt, dessen Fundament, wie kaum ein anderes, ein vorwiegend theoretisches ist. Dennoch wird eine systematische Uebersicht, mag sie auch weit davon entfernt sein, die apodiktische Sicherheit ihrer Schlußfolgerungen für sich in Anspruch zu nehmen, für die weitere Forschung von großem Werte sein, denn es wird wenigstens eine provisorische Ordnung in das mannigfaltige Gewirre der Bakteriophagen gebracht werden, die eine gewisse Orientierung ermöglichen wird. Man wird auf Grund der Vergleichung eines neu gefundenen Bakteriophagen mit schon bekannten leichter zu einer eventuellen Identifizierung gelangen, oder aber zu der Schaffung neuer Gruppen mit charakteristischen Eigenschaften. Man wird sowohl in der Analyse des Bakterienleibes vorwärtskommen, als auch zu einer annähernden Bestimmung der Zahl der überhaupt möglichen Bakteriophagen gelangen.

Daß die größten Schwierigkeiten in dieser Richtung die polyphagen Bakteriophagen bieten mit ihren umfangreichen Haupt- und Nebenwirkungen, die oft nicht oder nur sehr problematisch auseinanderzuhalten sind, ist schon oben erwähnt.

Die vorliegenden Untersuchungen haben vor allem den Zweck, eine Reihe von Bakteriophagen objektiv zu beschreiben, sie nach Möglichkeit zu bestimmen und die als identisch erkannten in Gruppen zusammenzufassen. Eine eingehende Untersuchung der gefestigten Bakterien soll an dieser Stelle keine Erwähnung finden, doch ist mit den Untersuchungen schon begonnen worden. Die Ergebnisse sollen in einer späteren Publikation veröffentlicht werden, ebenso die vergleichenden Untersuchungen der beschriebenen Bakteriophagen mit den schon längere Zeit bekannten, vor allem der g- und γ-Gruppe (Bail) des Bazillus Shiga-Kruse.

Um eine systematische Arbeit mit einiger Aussicht auf Erfolg beginnen zu können, war es notwendig, eine möglichst große Anzahl von Bakteriophagen zu gewinnen und sie vergleichend zu untersuchen. Es wurde zu diesem Zwecke eine große Menge von Stühlen auf ihre lytische Wirkung gegen eine Reihe von Bakterien untersucht. Vorgegangen wurde dabei in folgender Weise: Ein etwa haselnußgroßes Stück eines frischen, möglichst halbflüssigen Stuhles (flüssige Stühle sollen im allgemeinen bakteriophagenhaltiger sein als feste — Matsumoto —) wurde an einer Reibschale in 15—20 ccm Bouillon zerrieben. Die erhaltene Lösung wurde entweder 24 Std. im Brutschrank bei 37° gehalten, dann durch ein Papierfilter[1]) filtriert, das Filtrat zentrifugiert und $^1/_2$ Std. lang auf 56—58° erhitzt. Oder die Lösung wurde sofort, ohne Brutschrankaufenthalt derselben Behandlung unterzogen. Einen Vorteil des Brutschrankaufenthaltes konnten wir nicht feststellen. Darauf wurde je eine Oese des Filtrates mit einer Oese einer frischen Brühezucht eines der verwendeten Bakterien auf 0,9proz. Agar aufgestrichen. Auf diese Weise wurde eine größere Zahl von Bakteriophagen gewonnen, teils aus Menschen-, teils aus Tierstühlen, von denen 17 in mühevoller Arbeit isoliert wurden. Von Bakterien wurden verwendet: die 3 Dysenteriestämme Shiga, Flexner und Y, weiter 3 Coli-Stämme, Coli Cord (Rind), Coli Kraus (Mensch), Coli (Pferd), ferner ein Typhusstamm, ein Paratyphus B und in einigen Fällen ein Stamm von Bac. ent. Gärtner.

Kr S wurde in einem Krähenstuhle gefunden und mit Shiga weitergeführt. Seine Wirkungsbreite ist eine beschränkte. Von den Versuchsbakterien wurden lediglich angegriffen Shiga und Coli Cord. Mit Shiga erzeugt er mittelgroße klare Löcher von ca. 1 mm Durchmesser. Die Löcher sind vollkommen gleichmäßig. Mit Coli Cord bildet Kr S klare kleine bis sehr kleine Löcher. In Bouillon wird die Trübung stark verzögert. Shiga- wie Coli Cord-Bouillon sind nach 8 Std. vollständig klar. Nach 24 Std. ist in Coli Cord mittelstarke Trübung mit Bodensatz, in der Shiga-Bouillon leichte Trübung.

1 B, 2 B, 3 B, 4 B und 5 B wurden aus 5 Kinderstühlen isoliert. Alle 5 Bakteriophagen haben dieselbe Wirkungsbreite. Als empfind-

1) Es handelt sich selbstverständlich nicht um Bakterienfilter. Wenn Bakterienfilter benutzt werden, ist das nachträgliche Zentrifugieren und Erhitzen überflüssig.

lich erwiesen sich Paratyphus B und Bac. ent. Gärtner. Im B-Rasen entstehen klare, kleine, überwiegend gleichmäßige, aber auch kleinste Löcher. Abimpfungen von den kleinsten wie von den größeren zum Zwecke der Isolierung verliefen ergebnislos. Die Schwankungen müssen daher als physiologische angesehen werden. Alle 5 Bakteriophagen wurden durch viele Generationen mit B fortgeführt. Auf Gärtner wirken sie gleich gut wie auf B. Die Löcher sind gleichmäßiger als im B-Rasen und etwas größer, etwa untermittelgroß, klar, scharf begrenzt. In Fleischbrühe hemmen sie den Eintritt der Trübung ganz bedeutend. Nach 8 Std. ist eine spurenweise Trübung vorhanden, die auch nach 24 Std. erst $^1/_4$ bis $^1/_3$ der normalen Trübung der B- resp. Gärtner-Bouillon erreicht.

Es sei an dieser Stelle erwähnt, daß die im Vergleich zu dem häufigen Vorkommen der Coli- und Dysenterie-Bakteriophagen relativ seltenen auf Typhus und Paratyphus B wirkenden Lysine vom Verf. auffallend häufig in Kinderstühlen nachgewiesen werden konnten. Die Stühle stammten von Kindern, die wohl in Behandlung standen, aber weder an Dysenterie noch an Typhus oder Paratyphus erkrankt waren. Das jüngste der Kinder mit positivem Befund zählte 6 Monate.

Von 22 untersuchten Stuhlfiltraten zeigten 6 eine deutliche lytische Wirkung gegen Paratyphus B. 5 der gefundenen Bakteriophagen erwiesen sich, wie später noch gezeigt werden soll, als identisch. Der 6. ging, bevor er eingehend untersucht werden konnte, verloren. Bei 2 Filtraten fanden sich einige kleine Löcher im Typhusrasen, doch gelang es nicht, die Bakteriophagen mit Typhus weiterzuführen. Das ist verständlich, wenn man berücksichtigt, daß es bisher im Institute nicht gelungen ist, wirkliche Typhusbakteriophagen zu finden. Die Wirkung auf Ty mußte jedesmal als relativ schwache Nebenwirkung bezeichnet werden.

In einem der 6 Filtrate, die die Paratyphus B-Bakteriophagen enthielten, fand sich außerdem ein Bakteriophage von sehr umfangreicher Wirkungsbreite. Nicht weniger als 6 der Versuchsbakterien unterliegen seiner Wirkung (Shiga, Flexner, Y, Ty, B und Coli Cord). Seine Zusammensetzung scheint eine komplizierte zu sein. Er wurde lange Zeit mit Shiga weitergeführt, zeigte aber keine Aenderung der Wirkungsbreite. Trotzdem darf er nicht als rein betrachtet werden. Die Weiterführung mit den übrigen Keimen ergab, daß sich der Bakteriophage mit Flexner und Y nach der 3. Generation nicht mehr weiterführen ließ. Erwähnt sei ferner noch, daß, wie Vermehrungsversuche ergaben, seine Vermehrung mit Typhus und Paratyphus B eine sehr mangelhafte ist. Seine Wirkung auf diese beiden Keime ist zweifellos nur Nebenwirkung.

Weiter wurde in dem Stuhlfiltrate eines $3^1/_2$ Monate alten Kindes ein Bakteriophage gefunden, der sich als wirksam gegen Shiga, Flexner und Y erwies und mit KS bezeichnet wurde. Von ihm wird noch die Rede sein.

Es fanden sich also in den 22 Stühlen 9 auf Paratyphus B oder Typhus wirkende Bakteriophagen, d. i. ca. 35 Proz. Daneben fand sich nur ein einziger Dysenteriebakteriophage.

In einer Reihe von Stühlen Erwachsener, die teils von Typhus- und Dysenteriekranken stammten, wurden Coli- und Dysenteriebakteriophagen gefunden, die aber keinerlei Wirkung gegen Ty und Paratyphus B äußerten.

In etwa 15—20 Hühnerstühlen fand sich nur einmal ein Bakteriophage mit deutlicher Wirkung auf Ty und Paratyphus B, während Coli- und Dysenteriebakteriophagen sehr reichlich vorhanden waren.

Das untersuchte Material ist zu gering, um daraus einigermaßen sichere Schlüsse ziehen zu können. Immerhin sei an die Möglichkeit eines Zusammenhanges zwischen der relativen Gutartigkeit der Typhus- und B-Infektionen bei Kindern und dem Vorhandensein von Bakteriophagen hingewiesen.

Y m wurde aus einem Hühnerstuhle isoliert und wirkt nur gegen Y und Flexner. Mit Y erzeugt der Bakteriophage klare, mittelgroße Löcher von ca. 1 mm Durchm., ziemlich gleichmäßig. Mitunter treten einzelne kleine auf, die als physiologische Schwankungen angesehen werden müssen. Mit Flexner werden mittelgroße bis kleine Löcher gebildet, die unscharf begrenzt sind. Die mittelgroßen erreichen einen Durchmesser von ca. 1 mm. Die Löcher im Flexner-Rasen schwanken in der Größe mehr als die im Y-Rasen. Ein deutlicherer Unterschied in der Wirkungsart des Bakteriophagen auf beide Dysenteriekeime zeigt sich in der Wirkung auf beimpfte Bouillon. Die Y-Brühe läßt nach 8 Std. eine Spur von Trübung erkennen, die Flexner-Brühe dagegen bleibt klar. Nach 24 Std. ist das Y-Röhrchen stark trüb, das Flexner-Röhrchen wesentlich schwächer.

K S stammt aus einem Kinderstuhle. Seine Wirkungsbreite erstreckt sich auf die 3 Dysenterien Shiga, Flexner und Y. Im Shiga-Rasen entstehen klare, ziemlich gleichmäßige, untermittelgroße Löcher. Mit Flexner werden Löcher von derselben Größe gebildet, ebenfalls klar, gleichmäßig und sehr scharf begrenzt. Die Löcher im Y-Rasen sind ungleichmäßig, klein bis kleinst. Das Eintreten der Trübung wird stark gehemmt. Nach 7 Std. sind, trotz reichlicher Beimpfung, noch alle Röhrchen klar. Nach 24 Std. ist die Shiga- wie die Flexner-Bouillon etwa mittelstark trüb, die Y-Brühe dagegen nur spurenweise getrübt.

Fl K wurde aus Hühnerstuhl isoliert und wirkt gegen Coli Cord, Flexner und Y. Mit Coli Cord bildet er sehr scharf begrenzte, klare, kleine Löcher von ziemlich gleichmäßiger Größe. Dazwischen kommen immer einige kleinste vor. Eine Isolierung wurde wiederholt versucht, gelang aber nicht. Mit Flexner entstehen klare kleine Löcher, daneben auch einzelne kleinste. Dasselbe gilt für Y. Eine wesentliche Hemmung der Trübung tritt nur in der Flexner- und Y-Bouillon ein. Nach 7 Std. ist die Flexner-Bouillon gerade merklich getrübt. Die Y-Bouillon zeigt leichte Trübung, während die Coli Cord-Brühe eine starke Trübung aufweist. Nach 24 Std. ist das Flexner-Röhrchen klar und das Y-Röhrchen ziemlich stark trüb. In der Coli Cord-Brühe hat die Trübung eher etwas abgenommen.

S K stammt aus einem Schweinestuhl. Er wirkt gegen Coli Kraus, Shiga, Flexner und Y. Im Shiga-Rasen bildet er kleine, klare Löcher von ziemlich gleichmäßiger Größe. Daneben entstehen auch kleinste. Die Löcher mit Flexner sind ebenfalls klein, klar und gleichmäßig, aber kleiner als gegen Shiga. Im Y-Rasen entstehen kleine bis kleinste, klare Löcher von derselben Größe wie im Shiga-Rasen. Die Löcher gegen Coli Kraus sind vollkommen gleichmäßig, kleinst, punktförmig und klar. Die Trübung in den verschiedenen Röhrchen wird verschieden beeinflußt. Nach 7 Std. ist die Y-Brühe ziemlich stark, die Coli Kraus-Brühe spurenweise und die Shiga-

Brühe leicht getrübt. Die Flexner-Bouillon ist klar. Nach 24 Std. ändern sich die Verhältnisse bei Shiga und Y. Die Shiga-Bouillon ist vollständig klar geworden, in der Y-Brühe hat die Trübung stark abgenommen. Die Coli Kraus-Brühe ist wieder spurenweise getrübt und die Flexner-Brühe nach wie vor klar. Am eingreifendsten ist also in diesem Falle die Wirkung von SK auf Flexner. Denn während in den anderen Röhrchen früher oder später eine deutliche Trübung zugelassen wird, tritt in der Flexner-Bouillon trotz sehr reichlicher Einsaat (einige Tropfen frischer Brühekultur) auch in den nächsten Stunden unmittelbar nach der Einsaat keine Trübung ein, ebensowenig nach 24 Std.

Fl_1K wurde in Hühnerstuhl gefunden. Seine Wirkungsbreite erstreckt sich auf nicht weniger als 6 der verwendeten Bakterien, und swar auf Coli-Cord, die 3 Dysenterien Shiga, Flexner und Y, ferner auf Ty und Paratyphus B. Eine Zerlegung des Bakteriophagen gelang nicht, obgleich er lange Zeit mit allen empfindlichen Keimen weitergeführt wurde. Mit Coli-Cord werden sehr kleine bis kleinste, etwas trübe Löcher gebildet. Mit Shiga bildet er mittelgroße, klare Löcher, die nur in der Mitte des Rasens einigermaßen scharf begrenzt sind, dagegen in den Randpartien größer werden und einen verwaschenen Saum zeigen. Mit Flexner entstehen klare, mittelgroße Löcher mit denselben Eigenschaften wie die Löcher des Shiga-Rasens. Mit Y bildet der Bakteriophage kleine trübe Löcher, die nur in den Randpartien des Rasens sichtbar sind. Im Typhusrasen entstehen ganz kleine, ziemlich klare Löcher. Dasselbe gilt für Paratyphus B. In Bouillon tritt die Trübung bei Shiga und Flexner stark verspätet ein. Nach 7 Std. sind die Röhrchen klar, nach 24 Std. leicht trüb. In der Y-Bouillon wird die Trübung merklich, aber wesentlich schwächer gehemmt. Deutlich ist die Hemmung nach 7 Std. Nach 24 Std. ist die Y-Brühe ziemlich stark trüb. Bei Coli Cord, Ty und Paratyphus B ist ein Unterschied gegen normale Brühekultur nicht zu bemerken.

Hpg wurde in einem Hühnerstuhle gefunden und wirkt ausschließlich gegen Coli Pferd. Im Bakterienrasen erzeugt er große, klare, scharf begrenzte Löcher, in denen eventuell feste Kolonien wachsen. Der Durchmesser der Löcher beträgt ca. 2 mm. Einzelne kleinere Löcher kommen als physiologische Schwankungen vor. Die Trübung der Bouillon tritt verspätet ein. Nach 7 Std. ist sie eben angedeutet, nach 24 Std. hat sie die Stärke normaler Brühekultur erreicht.

Hm S stammt aus einem Hühnerstuhle. Seine Wirkungsbreite erstreckt sich lediglich auf Coli Cord und Shiga. Im Shiga-Rasen erzeugt der Bakteriophage klare, mittelgroße Löcher von etwa 1 mm Durchm. Sie sind sehr gleichmäßig, wenn auch kleinere Schwankungen vorkommen. Mit Coli Cord werden klare kleine, scharf begrenzte Löcher erzeugt. Der Eintritt der Trübung in Brühekulturen beider Keime wird ziemlich stark verzögert. Shiga-Bouillon war nach 7 Std. noch vollständig klar, Coli Cord-Bouillon ganz leicht getrübt. Nach 24 Std. zeigte sich die Shiga-Brühe spurenweise getrübt, während Coli Cord etwa mittelstark trüb war.

Gc stammt aus einem anderen Hühnerstuhle. Die Löcher im Shiga-Rasen sind mittelgroß (ca. 1 mm Durchm.) klar und gleichmäßig. Die Löcher mit Coli Cord sind sehr scharf begrenzt, fast

plastisch klar und klein. In Bouillon verzögert er den Eintritt der Trübung. Shiga-Bouillon ist nach 7 Std. vollständig klar, nach 24 Std. eben merklich getrübt. Coli Cord ist nach 7 Std. ebenfalls klar, nach 24 Std. mittelstark trüb.

Zc wurde aus dem Harn eines an Coli-Cystitis erkrankten Patienten gezüchtet, indem von einer Flatterkolonie abgeimpft wurde. Den empfindlichen Coli-Stamm zu züchten, gelang nicht, da trotz wiederholten Abimpfens nur bakteriophagenfeste Kolonien wuchsen. Die Wirkungsbreite von Zc erstreckt sich auf Coli Cord und Shiga. Mit Shiga werden gleichmäßige, klare, kleine Löcher erzeugt, im Coli Cord-Rasen entstehen kleinste, klare, punktförmige, scharf begrenzte Löcher. Das Eintreten der Trübung in Bouillonkulturen wird stark gehemmt. Die Shiga-Brühe ist nach 7 Std. ganz leicht getrübt, nach 24 Std. fast klar. Die Coli Cord-Bouillon ist nach 7 Std. leicht trüb, nach 24 Std. ist die Trübung mittelstark.

Pei stammt aus dem Stuhlfiltrate eines Erwachsenen. Er wirkt auf Coli Cord, Shiga, Flexner und Y. Mit Coli Cord bildet er allerkleinste, gleichmäßige, klare Löcher. Im Shiga-Rasen entstehen kleine bis kleinste, ziemlich klare Löcher, im Flexner-Rasen kleinste, trübe Löcher, die nur am Rande sichtbar sind und am äußersten Rasenrande etwas größer werden. Mit Y bildet der Bakteriophage Pel kleinste, zwischen trüb und klar schwankende Löcher. Nach 7 Std. ist die Shiga-Bouillon leicht, die Coli Cord- und Flexner-Bouillon mittelstark getrübt. Die Y-Brühe ist klar. Nach 24 Std. ändert sich das Bild. Shiga ist jetzt klar, Flexner und Y spurenweise getrübt. Coli Cord behält die mittelstarke Trübung.

Hm, aus einem Hühnerstuhlfiltrate isoliert, wirkt gegen Coli Kraus, Coli Pferd, Y und Flexner. Die Löcher mit den beiden Coli-Stämmen sind klein, nicht ganz gleichmäßig. Im Flexner- und Y-Rasen werden mittelgroße Löcher gebildet, von etwa 1 mm Durchm., klar, gleichmäßig, nicht ganz scharf begrenzt. Die Y- und Flexner-Brühe ist nach 7 Std. klar, nach 24 Std. zeigt das Y-Röhrchen leichte Trübung, das Flexner-Röhrchen spurenweise Trübung. Coli Kraus und Coli Pferd unterscheiden sich von normalen Brühekulturen nicht.

Von den angeführten Bakteriophagen können als sicher rein gelten: KrS, die 5 B-Bakteriophagen, Hpg, HmS, Gc und Zc. Mit großer Wahrscheinlichkeit sind weiter rein: Ym, KS, FlK, SK, Pel und Hm. Die Reinheit von Fl_1K bleibt fraglich.

Es wurde nun versucht, die Zugehörigkeit der beschriebenen 17 Bakteriophagen zu einem bestimmten Bakterium zu ermitteln. Aus der Wirkungsbreite kann ein diesbezüglicher Schluß nur in solchen Fällen gezogen werden, in denen die Bakteriophagenwirkung eine rein spezifische ist, wie z. B. bei Hpg, der nur auf Coli Pferd in großen Löchern wirkt und daher als Coli Pferd-Bakteriophage zu bezeichnen ist. Bei allen übrigen Bakteriophagen mußte zu der Vermehrungsbestimmung mit den empfindlichen Keimen geschritten werden. Es wurde dabei nach dem Grundsatze vorgegangen, daß ein Bakteriophage demjenigen Keime beizuordnen ist, auf den er optimal wirkt, mit dem er sich also am besten und schnellsten vermehrt.

Immerhin konnte schon aus der Bestimmung der Wirkungsbreite und aus der Art des Einflusses auf das Bakterienwachstum in Bouillon einerseits und auf Agar andererseits bis zu einem gewissen Grade auf die Verwandtschaft gewisser Bakteriophagen geschlossen werden. Das gilt vor allem für die aus Kinderstühlen

isolierten Bakteriophagen mit der Wirksamkeit auf Paratyphus B und Bac. ent. Gärtner, weiter für die gegen Shiga und Coli Cord wirkenden Bakteriophagen Kr S, Hm S, Gc und Zc. Nur Zc weicht in der Lochbildung etwas von den 3 erstgenannten ab. Während die 3 anderen im Shiga-Rasen mittelgroße und im Coli Cord-Rasen kleine Löcher erzeugen, bildet Zc mit Shiga kleine und mit Coli Cord kleinste Löcher. Dieser Unterschied ist nicht bedeutend, muß aber berücksichtigt werden.

Die Vermehrungsversuche wurden in folgender Weise angestellt: 4 ccm Bouillon wurden mit 1 Oese des konzentrierten Bakteriophagen beimpft. Darauf kam die infizierte Bouillon auf $^1/_2$ Std. in ein Wasserbad von 56—58°. Unmittelbar vor der Beimpfung mit Bakterien wurde die erste Platte gestrichen. Darauf wurden die Röhrchen reichlich mit den betreffenden Bakterien aus einer frischen Brühekultur beimpft und bei 37° bebrütet. Von Zeit zu Zeit wurde aus jedem Röhrchen eine Oese entnommen, in 1 ccm Bouillon verdünnt und $^1/_2$ Std. auf 58° erhitzt, dann wurden in aufsteigender Verdünnung die Platten gestrichen. Es zeigen also die Zahlen der ersten Reihe immer den tatsächlichen Gehalt der Röhrchen am Bakteriophagen vor der Bakterieneinsaat an, die nächsten Zahlen müssen mit der Oesenverdünnung (etwa 15) multipliziert werden, um die Bakteriophagenzahl der 4 ccm-Röhrchen zu erhalten.

Es sei infolge Raummangels verzichtet, alle angestellten Vermehrungsversuche in Tabellenform wiederzugeben. Sie bestätigten im allgemeinen die Voraussetzungen. Die Bakteriophagen mit ausgedehnter Wirkungsbreite vermehrten sich in der Regel mit mehreren Bakterien gleich gut, so daß eine Zuteilung zu einem der betreffenden Keime auf diesem Wege unmöglich erscheint. Es sei an dieser Stelle eine kurze Uebersicht gegeben:

Der elektiv auf Coli Pferd wirkende Bakteriophage Hpg vermehrt sich, wie nicht anders erwartet werden konnte, mit Coli Pferd ausgezeichnet. Schon nach 4 Std. wurde in der 1. Verdünnung keine Rasenbildung zugelassen. Die Diagnose Coli Pferd-Bakteriophage kann somit als gesichert gelten.

Ym vermehrt sich optimal mit Flexner und mit Y. Die Höchstkonzentration ist schon nach 4 Std. fast erreicht. Die gebildeten Löcher sind mit beiden Keimen ziemlich gleichgültig. Ym ist als Dysenteriebakteriophage anzusprechen.

KS vermehrt sich sehr gut mit allen 3 Dysenterien. Am gleichmäßigsten sind die Löcher mit Shiga und Flexner. Ob es sich um einen Shiga- oder Flexner-Bakteriophagen handelt, ist nicht zu entscheiden. Wir bezeichnen ihn ebenfalls als Dysenteriebakteriophagen.

Der auf Coli Cord, Flexner und Y wirkende Bakteriophage FlK vermehrt sich gleich gut mit Coli Cord und mit Flexner. Die Vermehrung mit Y ist merklich schwächer. Es dürfte sich, wenn man die Art der Löcher berücksichtigt, die mit Coli Cord sehr scharf begrenzt, klar und gleichmäßig sind, um einen Coli-Bakteriophagen handeln.

SK vermehrt sich mit Flexner und Coli Kraus gleich gut. Mit Shiga wird nach 24 Std. wohl dieselbe Endzahl an Bakteriophagen erreicht, die Vermehrung selbst geht aber langsamer vor sich, als mit den beiden anderen Keimen. Mit Y ist die Vermehrung erheblich schwächer. Es möge dahingestellt bleiben, ob es sich in diesem Falle um einen Coli- oder einen Dysenterie-Bakteriophagen handelt.

Fl_1K vermehrt sich optimal mit Flexner, etwas schwächer mit Shiga. Deutlich vermehrt er sich weiter mit Coli Cord. Die Vermehrung mit Y, Ty und Paratyphus B ist schwach. Es dürfte sich demnach um einen Dysenteriebakteriophagen handeln mit starker Nebenwirkung auf Coli Cord und schwacher Nebenwirkung auf Y, Ty und Paratyphus B.

Der Bakteriophage Pel vermehrt sich gleich gut mit den 3 Dysenterien, aber mit Y bei weitem am schnellsten. Mit Coli Cord ist die Vermehrung eine schlechtere und ebenfalls bedeutend langsamer als mit Y. Indessen sei hier auf eine Fehlerquelle hingewiesen. Man darf nicht immer das Fehlen von Rasenbildung als ein Zeichen besserer Vermehrung auffassen, als noch zählbare Löcher im Rasen.

Erzeugt ein Bakteriophage mit einem Keime mittelgroße, mit einem zweiten kleinste Löcher, so ist es einleuchtend, daß bei gleich guter Vermehrung mit beiden sich eine Grenzverdünnung finden muß, die dem Keime, mit dem mittelgroße Löcher gebildet werden, keine Rasenbildung gestattet, während die kleinsten Löcher sich noch zählbar im gut erhaltenen Rasen finden werden. 500 mittelgroße Löcher werden z. B. in einem Rasen, der $^1/_8$ Agarplatte bedeckt, nicht mehr nebeneinander Platz haben, wohl aber ebensoviel kleinste Löcher.

Der Bakteriophage Hm erwies sich als Dysenteriebakteriophage. Die Vermehrung mit Y und Flexner ist optimal, mit Coli Kraus und Coli Pferd findet keine Vermehrung statt.

Von großem Interesse waren die Bakteriophagen, die schon durch Wirkungsbreite und Wirkungsart auf Agar und in Bouillon ihre nahe Verwandtschaft dokumentierten. Die Vermehrungsversuche bestätigten die bisherigen Befunde und ließen ihre Identität als wahrscheinlich erscheinen. Tabelle I zeigt die Vermehrung der Bakteriophagen KrS, HmS, Gc und Zc.

Tabelle I*).

Bakteriophagen	Bakterien	Stunden	unverdünnt	1. Verdünnung	2. Verdünnung	3. Verdünnung
KrS	Shiga	0	500	15	.	.
		3	.	l.	l.	17
		7	.	l.	l.	100
	Coli Cord	0	200	6	.	.
		3	.	dtst.	20	.
		7	.	l.	100	4
HmS	Shiga	0	10	1	.	.
		3	.	l.	l.	85
		7	.	l.	l.	70
	Coli Cord	0	10	.	.	.
		3	.	200	27	.
		7	.	l.	130	3
Gc	Shiga	0	12	.	.	.
		3	.	l.	l.	26
		7	.	l.	l.	70
	Coli Cord	0	28	1	.	.
		3	.	l.	300	12
		7	.	l.	200	7
Zc	Shiga	0	12	.	.	.
		3	.	90	6	.
		7	.	l.	300	6
	Coli Cord	0	13	.	.	.
		3	.	70	4	.
		7	.	400	10	.

*) Für die Tabellen wurden folgende Bezeichnungen verwendet: l. = leer, θ = Rasen ohne bakteriophage Wirkung, dtst. = dichtest nebeneinander stehende Löcher.

Die Eindeutigkeit des Ergebnisses läßt nichts zu wünschen übrig. Alle 4 Bakteriophagen vermehren sich mit beiden Keimen gut. Mit Shiga wird eine höhere Bakteriophagenkonzentration erreicht, als mit Coli Cord. Die Schnelligkeit der Vermehrung ist mit Shiga eine etwas größere. Es wird durchweg nach 3 Std. in der 2. Verdünnung keine Rasenbildung mehr zugelassen. In der 3. Verdünnung treten noch bis zu 80 Löcher auf. Mit Coli Cord entstehen nach 3 Std. in der 2. Verdünnung noch zählbare Löcher, in der 3. Verdünnung ist Bakteriophagenwirkung nur in 1 Falle nachweisbar, bei Zc scheint

die Vermehrung mit beiden Keimen etwas schwächer zu sein. Zur Entscheidung, ob es sich in diesem Falle um ColiCord- oder Shiga-Bakteriophagen handelt, wird indessen der Vermehrungsversuch allein nicht genügen, wenn, wie hier, die Differenzen so relativ geringe sind. Man wird als Hilfsmittel die Lochbildung im Bakterienrasen herbeiziehen müssen. Auch sie ist bei den 4 Bakteriophagen übereinstimmend. Mit Shiga werden mittelgroße, klare, vollkommen gleichmäßige Löcher gebildet, während die Löcher im Coli Cord-Rasen bedeutend kleiner und in der Größe schwankend sind. Nach Bail ist die Gleichmäßigkeit der Löcher ein Zeichen von Hauptwirkung, während ungleichmäßige Löcher, also hier kleine und kleinste, mehr bei Nebenwirkung auftreten. Man dürfte nicht fehlgehen, wenn man die Bakteriophagen KrS, HmS, Gc und Zc als Shiga-Bakteriophagen bezeichnet.

Tabelle II zeigt die Vermehrung der Bakteriophagen 1B, 2B, 3B, 4B und 5B.

Tabelle II.

Bakteriophagen	Bakterien	Stunden	unverdünnt	1. Verdünnung	2. Verdünnung	3. Verdünnung
1 B	B	0	dtst.	300	.	.
		3	.	l.	dtst.	400
		7	.	l.	dtst.	300
	G	0	75	2	.	.
		3	.	dtst.	50	.
		7	.	l.	100	.
2 B	B	0	300	20	.	.
		3	.	l.	dtst.	.
		7	.	l.	l.	300
	G	0	100	9	.	.
		3	.	dtst.	100	.
		7	.	l.	200	.
3 B	B	0	500	31	.	.
		3	.	l.	dtst.	.
		7	.	l.	dtst.	250
	G	0	dtst.	180	.	.
		3	.	l.	80	.
		7	.	l.	150	.
4 B	B	0	dtst.	120	.	.
		3	.	l.	dtst.	.
		7	.	l.	dtst.	400
	G	0	80	10	.	.
		3	.	dtst.	100	.
		7	.	l.	150	.
5 B	B	0	400	23	.	.
		3	.	l.	dtst.	.
		7	.	l.	l.	400
	G	0	120	8	.	.
		3	.	dtst.	200	.
		7	.	l.	180	.

Es zeigt sich auch in diesem Falle eine vollkommene Uebereinstimmung aller 5 Bakteriophagen. Die Vermehrung mit B scheint etwas

besser zu sein als mit Gärtner. In beiden Rasen sind die Löcher ziemlich gleichmäßig. Mit Gärtner sind sie größer als mit B und von etwas gleichmäßigerer Größe. Kleinste Löcher kommen bei allen Keimen vor. Es handelt sich jedenfalls um ausgesprochene Paratyphus-Bakteriophagen.

Um die Identität der 5 Bakteriophagen, die durch die vorhergehenden Versuche schon sehr wahrscheinlich geworden war, einwandfrei festzustellen, wurde folgender Versuch angestellt: Je 1 Bouillonröhrchen wurde mit dem Bakteriophagen und Paratyphus B resp. Fleischvergifter Gärtner beimpft und bei 37° bebrütet. Nach 24 Std. wurde von jedem Röhrchen, die Bouillon hatte sich inzwischen entsprechend getrübt, je 1 Oese auf Agar ausgestrichen. Die ersten Striche zeigten Rasen ohne jede Bakteriophageneinwirkung, in den folgenden traten Einzelkolonien auf. Von einer isolierten Kolonie wurde abgeimpft und auf frischen Agar aufgestrichen. Nach 24 Std. wurde von einer Einzelkolonie wieder abgeimpft und so fort durch 5 Generationen. Von der 5. Generation wurde auf Schrägagar geimpft und von dort in Bouillon. Es wurden nun je 1 Oese des konzentrierten Bakteriophagen mit 1 Oese der bewachsenen Bouillon auf der Platte vermischt und ausgestrichen. Das Ergebnis zeigt Tabelle III.

Tabelle III.

	Bakterien	norm. B	norm. G	1 B B fest	1 B G fest	2 B B fest	2 B G fest	3 B B fest	3 B G fest	4 B B fest	4 B G fest	5 B B fest	5 B G fest
Bakteriophagen	1 B	l.	l.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2 B	l.	l.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3 B	l.	l.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4 B	l.	l.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5 B	l.	l.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Aus Tabelle III ist ersichtlich, daß die Festigung gegen einen der 5 Bakteriophagen gleichzeitige Festigung gegen die übrigen 4 bedeutet. Mit anderen Worten: Der Angriffspunkt, den der Bazillus B resp. Gärtner den Bakteriophagen 1B bietet, ist identisch mit dem Angriffspunkte, der 2B usw. geboten wird. Da dieser Angriffspunkt nach Bail einer Gruppe des Bakterienleibes entspricht, die selbst zum Bakteriophagen wird und daher dem festen Bazillus fehlt, müssen 1B, 2B, 3B, 4B und 5B derselben Gruppe des Bazillus B resp. Gärtner entsprechen. Sie müssen also identisch sein. Die genannten Bakteriophagen können selbstverständlich sowohl aus Paratyphus B wie aus Gärtner entstehen. Es scheint also, daß dem Bakteriophagen mit größter Wirkungsbreite größere Entstehungsmöglichkeiten zu Gebote stehen als den Monovalenten. Somit müßte es theoretisch mehr polyphage Bakteriophagen geben als solche, die nur gegen einen einzigen Keim wirksam sind. Tatsächlich scheint dies auch der Fall zu sein.

In derselben Weise, wie bei der Bestimmung der Identität der Paratyphus-Bakteriophagen vorgegangen wurde, wurden die Bakteriophagen HmS, KrS, Gc und Zc zu identifizieren versucht. Die Festigung von Coli Cord war leicht durchzuführen, Shiga dagegen wuchs entweder im direkten Aufstrich überhaupt nicht oder ließ sich durch einige Generationen als scheinbar fest weiterführen, um plötzlich wieder in die Normalform zurückzuschlagen. Nach wiederholten Versuchen gelang die Festigung schließlich doch.

Tabelle IV.

	Bakterien	norm. Shiga	norm. C. C.	Kr S S. fest	Kr S C.C. fest	HmS S. fest	HmS C.C. fest	Gc S. fest	Gc C.C. fest	Zc S. fest	Zc C.C. fest
Bakteriophagen	Kr S	l.	l.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Hm S	l.	l.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Gc	l.	l.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ
	Zc	l.	l.	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ	θ

Tabelle IV zeigt, daß die 4 Shiga-Bakteriophagen identisch sind. Die Festigung gegen den einen von ihnen festigt gleichzeitig gegen die übrigen.

Bail fand in verschiedenen Stühlen Shiga-Bakteriophagen, die sich nur mit Shiga vermehren und auf der Platte große Löcher erzeugen. Er nannte sie wegen ihrer im wesentlichen nur auf Shiga beschränkten Wirkungsbreite Shiga-Elementarbakteriophagen und schuf die Trennung in eine g-Form und eine γ-Form. Der hauptsächlichste Unterschied zwischen beiden Formen besteht daran, daß die Bakteriophagen, die der g Form angehören, die Bildung fester Bakterien nicht zulassen, während sich die Festigung gegen die γ-Form leichter durchführen läßt.

Durch die vorliegenden Untersuchungen wurden nun Bakteriophagen gefunden, die mit ziemlicher Sicherheit als Shiga-Bakteriophagen bezeichnet werden dürfen, die aber keine Shiga-Elementarbakteriophagen im Sinne Bails sind. Ihre Wirkungs- und vor allem Vermehrungsbreite ist erweitert, sie können sich neben Shiga noch relativ gut mit Coli Cord vermehren. Ihre Identität scheint festzustehen. Ihr relativ häufiges Vorkommen, unter ca. 25 Bakteriophagen wurden sie 4mal gefunden, und ihre Gewinnung aus den verschiedensten Medien (KrS aus Krähenstuhl, HmS und Gc aus Hühnerstühlen, und Zc aus Cystitis-Harn) scheinen die Annahme zu rechtfertigen, daß es sich um eine feste Form handelt, die wir mit δ bezeichnen wollen. Sie stellt gewissermaßen eine Uebergangsform zu den wirklichen Polyphagen dar, die nichts mehr mit Shiga zu tun haben, sondern als Coli- oder Pseudodysenterie-Bakteriophagen Shiga entweder unbeeinflußt lassen oder nur nebenwirkend auf Shiga übergreifen.

Eine Gruppe für sich bilden die 5 Paratyphus-Bakteriophagen, die mit den Shiga-Bakteriophagen nichts gemeinsam haben und deren Wirksamkeit auf die Paratyphus-Gruppe beschränkt zu sein scheint. Sie mögen als Form B bezeichnet werden. Die Festigung gegen sie ist für Paratyphus B und Bac. ent. Gärtner leicht durchzuführen. Ihre Wirkungs und Vermehrungsbreite ist, wie die der δ-Form eine beschränkte, wie sich beide Gruppen überhaupt sehr ähneln.

Daß es nicht nur Shiga-Elementarbakteriophagen geben dürfte, sondern auch Elementarbakteriophagen anderer gramnegativer Stäbchen, ist schon durch die Splitter-Theorie Bails sehr wahrscheinlich gemacht. Jeder Keim dürfte über Gruppen verfügen, die nur ihm allein zukommen und ihn von den verwandten Keimen unterscheiden. Die Gruppen, die mehrere Keime gemeinsam haben, bedingen deren Aehnlichkeit. Wird nun eine der spezifischen Gruppen zum Bakteriophagen, so ist ein Elementarbakteriophage entstanden. Um einen Elementarbakteriophagen in diesem Sinne dürfte es sich bei Hpg handeln, der auf Coli Pferd in großen Löchern wirkt und in seiner Wirkungsbreite von 8 Versuchsbakterien auf Coli Pferd allein beschränkt ist. Die

Festigung gegen ihn ist leicht durchzuführen. Er schint als Coli-Elementarbakteriophage ein Analogon zu den Shiga-Elementarbakteriophagen der γ-Form zu bilden.

Zusammenfassung.

Es wurden 17 aus verschiedenen Stühlen isolierte Bakteriophagen beschrieben und nach Möglichkeit bestimmt. 4 davon erwiesen sich als Shiga-Bakteriophagen und als identisch und wurden als δ-Form bezeichnet. Weitere 5 Bakteriophagen erwiesen sich als identische Paratyphus-Bakteriophagen und wurden als B-Form bezeichnet. Einer der gefundenen Bakteriophagen konnte als Coli-Elementarbakteriophage bestimmt werden.

Literatur.

Bail, Elementarbakteriophagen des Shiga-Bazillus. (W. kl. W. 1922. Nr. 35 bis 39.) — Derselbe, Versuche über die Vielheit von Bakteriophagen. (Zeitschr. f. Immunitätsf. Orig. Bd. 38. 1923. H. 1—2.) — Bail u. Okuda, Der Abbau lebender Bakterien durch Bakteriophagen. (Arch. f. Hyg. Bd. 92.)

Nachdruck verboten.

Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung.

II. Mitteilung.

[Aus dem Hygienisch-bakteriologischen Institut des Hauptgesundheitsamtes der Stadt Berlin.]

Von **Fritz von Gutfeld** und **Edith Weigert.**

In unserer früheren Mitteilung (1) hatten wir über Komplementbindungsversuche an etwa 200 Seren berichtet, wobei wir als Antigen eine selbstbereitete homogene Kultur auf Besredkaschem Eiernährboden benutzt hatten. Wir hatten damals in ca. 78 Proz. völlige Uebereinstimmung mit der klinischen Diagnose; in Frühstadien der tuberkulösen Erkrankungen wurde relativ häufig ein negativer Reaktionsausfall beobachtet. Sera von Luetikern mit positiver Wassermann-Luesreaktion gaben häufig, auch bei Abwesenheit von Tuberkulose, eine mehr oder weniger deutliche Reaktion mit dem Tuberkulose-Antigen.

Die Absicht, unsere Resultate noch weiterhin zu verbessern, veranlaßte uns, unsere Versuche unter Veränderung der Antigenherstellung fortzusetzen. Gleichzeitig verbanden wir damit die Absicht, auch die inzwischen durch v. Wassermann (2) angegebene Methodik der Komplementbindung mit seinem Antigen einer Nachprüfung zu unterziehen. Die Wassermannsche Probe soll eine spezifische Reaktion auf aktive Tuberkulose sein. Die Technik unserer Versuche gestaltete sich folgendermaßen:

I. Herstellung des Besredka-Antigens.

Die Züchtung der Tuberkelbazillen nahmen wir in der gleichen Weise vor wie früher. Die 2 bis 3 Wochen alten Kulturen wurden auf Bazillengehalt und Reinheit geprüft, durch 20 Min. langes Erhitzen

im Autoklaven bei 110° abgetötet und so lange mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen (Zentrifuge), bis die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar war. Beiläufig sei bemerkt, daß der erste Abguß zur nochmaligen Züchtung von Tuberkelbazillen brauchbar zu sein pflegt, was eine beträchtliche Ersparnis an Nährboden bedeutet. Die gewaschenen Tuberkelbazillen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und in Schüttelflaschen mit Glasperlen etwa 3 bis 4 Std. im Apparat geschüttelt, bis eine ziemlich dichte, homogene Aufschwemmung erzielt wurde. Diese stellt das Antigen dar. Da durch das Waschen der Nährboden praktisch völlig entfernt wird, kann die in der früheren Arbeit beschriebene Nährbodenkontrolle im Hauptversuch fortbleiben. Es gibt daher jetzt auch keine „Nährbodenhemmung" mehr, wodurch früher ca. 5 Proz. der Resultate unverwendbar wurden.

II. Versuchsanordnung für die Komplementbindungsreaktion mit Besredka-Antigen.

a) Vorversuche.

1) Austitrierung des hämolytischen Ambozeptors in der üblichen Weise. Als Gebrauchsdosis wird die 3—4fache komplett lösende Ambozeptordois verwendet.

2) Austitrierung des Antigens. Fallende Antigenmengen werden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 0,7 ccm aufgefüllt. Nach Zugabe von 0,3 ccm einer 10proz. Komplementverdünnung kommen die Röhrchen für 25 Min. zur Bindung ins Wasserbad von 37°. Nach Zusatz von 1 ccm sensibilisierten Hammelblutes und 30 Min. langem Aufenthalt bei 37° (Wasserbad) wird abgelesen. Als Gebrauchsdosis für den folgenden Vorversuch und den Hauptversuch wird diejenige Antigenmenge gewählt, die eine komplette Lösung zuläßt.

3) Austitrierung des Komplements. Die Antigen-Gebrauchsdosis wird mit steigenden Mengen (0,1; 0,2; 0,3; 0,4 ccm) einer 10proz. Komplementverdünnung gemischt und mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1 ccm aufgefüllt. Bindung, Zusatz des sensibilisierten Hammelblutes und Lösung wie unter 2) beschrieben. Zum Hauptversuch werden die eben noch lösende Komplementdosis sowie die um 0,1 und 0,2 ccm höheren Komplementdosen verwendet.

b) Hauptversuch.

In sämtlichen Versuchen werden zwei unserer selbsthergestellten Antigene, die sich durch die Länge der Kulturbebrütung unterscheiden, benutzt. 9 Röhrchen erhalten je 0,2 ccm inaktiviertes Patientenserum. In Röhrchen 1 bis 3 wird die Gebrauchsdosis des einen Antigens, in Röhrchen 4 bis 6 die des anderen Antigens eingefüllt. In die Röhrchen 1, 4 und 7 kommt die niedrigste Komplementgebrauchsdosis, in die Röhrchen 2, 5 und 8 die nächsthöhere, in die Röhrchen 3, 6 und 9 die höchste. Sämtliche Röhrchen werden mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,0 aufgefüllt. Bindung im Wasserbad bei 37° 25 Min., Zugabe von 1 ccm sensibilisierten Hammelbluts, erneuter Aufenthalt im Wasserbad für 30 Min., Ablesung. Die Röhrchen 7 bis 9 sind Serumkontrollen; bei der Ablesung werden jeweils diejenigen 3 Röhrchen, welche die gleiche Komplementmenge enthalten, miteinander verglichen. Ist in keiner der 3 Serumkontrollen Lösung eingetreten, so wird das Resultat als Eigenhemmung bezeichnet. Sind sämtliche Röhrchen gelöst, so ist die Komplementbindungsreaktion negativ. Sind sämtliche Serumkontrollen gelöst, die ersten 6 Röhrchen ungelöst, so ist die Reaktion stark positiv; Zwischenstufen werden als verdächtig (?) bezeichnet. Wir möchten betonen, daß die Ablesung der Resultate bezüglich des Hämolysegrades niemals Schwierigkeiten bereitete, was uns besonders auch im Hinblick auf die Mitteilung von Silberstein (3) über seine Erfahrungen mit der Wassermannschen Tuberkulosereaktion wichtig erscheint.

III. Versuchsanordnung für die Wassermannsche Tuberkulosereaktion.

Das Antigen und die Lezithinlösung wurden uns für den größten Teil unserer Versuche von Geh. Rat v. Wassermann freundlichst zur Verfügung gestellt, außerdem benutzten wir auch ein von der

Firma Riedel nach v. Wassermanns Angaben hergestelltes Antigen. Die Aufschwemmung wurde so bereitet, daß eine abgewogene Menge Antigen im Achatmörser mit einer abgemessenen geringen Menge physiologischer Kochsalzlösung sorgfältig angerieben wurde. Dann wurde so viel Kochsalzlösung zugegeben, daß eine 1proz. Aufschwemmung resultierte. Diese wurde in einer Schüttelflasche mit Glasperlen im Apparat $^1/_2$—1 Std. geschüttelt. Trotz all dieser Manipulationen gelang es uns niemals, eine völlig homogene Emulsion zu erzielen. Schon nach einigen Minuten bildete sich ein Bodensatz; die überstehende gleichmäßig getrübte Flüssigkeit benutzten wir als Antigen. Die Schwierigkeit (oder Unmöglichkeit), eine 1proz. homogene Antigenaufschwemmung herzustellen, ist für die Beurteilung der Brauchbarkeit der Reaktion ohne Bedeutung, da man das Antigen zu jedem Versuch austitriert. In der Versuchstechnik haben wir uns genau nach den Angaben v. Wassermanns gerichtet, so daß eine nähere Beschreibung sich erübrigt. Betonen möchten wir nur, daß an jedem Versuchstag eine frische Aufschwemmung bereitet wurde, da Vergleiche mit 8 Tage im Eisschrank aufbewahrten Antigenaufschwemmungen zeigten, daß die antigene Eigenschaft der Suspensionen nach Aufbewahrung Schwankungen unterworfen ist. Bei der Ablesung hatten wir nur selten komplette Hemmungen in den Röhrchen, in denen Serum mit lecithinbeladenem Antigen gemischt war, zu verzeichnen; wenn das der Fall war, so gab meist auch das unbeladene Antigen eine mehr oder minder starke Hemmung der Hämolyse. Die Bewertung der Resultate nahmen wir in gleicher Weise wie bei jeder anderen Komplementbindungsreaktion üblich vor. Komplette und fast komplette Hemmung (++++ und +++) bezeichneten wir als positiv, geringere Hemmungen als schwach positiv oder verdächtig[1]).

Daß wir in allen unseren Versuchen die üblichen Kontrollen mitgehen ließen, sei nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

Wir haben ferner im Hinblick auf unsere früheren Erfahrungen und zur Nachprüfung der Angaben v. Wassermanns in jedem Falle, in dem genügend Serum zur Verfügung stand, auch die Wassermann-Luesreaktion gleichzeitig mitgeprüft.

Die Blutproben erhielten wir nur mit Namen oder Nummer bezeichnet[2]). Erst nachdem wir die serologische Diagnose gestellt und der einsendenden Stelle das Ergebnis mitgeteilt hatten, erfuhren wir die klinischen Angaben.

Die klinische Diagnose war gestellt auf Grund des physikalischen Befundes, Röntgendurchleuchtung, Pirquet und Anamnese (Heredität, Umgebung).

Entsprechend den Gewohnheiten der verschiedenen Einsender waren die Bezeichnungen nicht ganz einheitlich. Wir haben deshalb die Ergebnisse der serologischen Prüfung in zahlreichere Gruppen untergeteilt.

Betrachten wir zunächst eine Gruppe von 113 Seren, bei denen die Wassermannsche Luesreaktion, die Wassermannsche Reaktion auf

1) v. Wassermann bezeichnet auch ganz schwache Hemmungen (+ und ±) bereits als positiv.

2) Wir möchten auch an dieser Stelle den Herren Prof. E. Müller (Waisenhaus Rummelsburg), Dr. Rosenstern (Kinderheilanstalt Buch), Dr. Eisner (Krankenhaus Südufer), Prof. Pincus (Obdach), Geh. Rat Brandenburg (Rudolf Virchow-Krankenhaus), Dr. Bamberg (Säuglingsfürsorge), Dr. Spohde (Lungenfürsorge) für die Ueberlassung der Sera und Angabe der klinischen Daten unseren Dank aussprechen.

aktive Tuberkulose und die Komplementbindungsreaktion mit unserem Besredka-Antigen gleichzeitig angesetzt wurden.

Tabelle I.

	Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann Luesreaktion				Wassermann-Tuberkul.-Reakt.					Besredka-Reaktion			
			—	?	+	E	—	?	+	E	Lh	—	?	+	E
1	Völlig gesund	4	4	.	.	.	1	2	1	.	.	2	1	1	.
2	Gesund, aber gefährdet	3	3	.	.	.	3	.	.		.	1	.	2	.
3	Tuberkuloseverdacht	4	4	.	.	.	3	.	.	1	.	2	2	.	.
4	Infiziert	4	4	.	.	.	3	.	1	.	.	1	.	2	1
5	Hilusdrüsen	3	3	.	.	.	2	1	.	.	.	.	1	2	.
6	Spitzenaffektion	4	3	1	.	.	2	2	.	.	.	1	2	1	.
7	Nicht aktiv	7	7	.	.	.	5	.	2	.	.	3	1	3	.
8	Aktiv	26	26	.	.	.	12	4	8	2	.	5	7	13	1
9	Geschlossene Tuberkulose	4	4	.	.	.	3	1	.	.	.	1	.	3	.
10	Offene Tuberkulose	28	27	.	1	.	10	.	16	2	.	2	3	22	1
11	Hämoptoë	1	1	.	.	.	.	.	1	.	.	1	.	.	.
12	Bauchfelltuberkulose	1	1	.	.	.	.	.	1	.	.	.	.	1	.
13	Pleuritis sicca	1	1	.	.	.	1	.	.	.	.	.	1	.	.
14	Lues	12	4	3	5	.	9	2	.	.	1	11	1	.	.
15	Andere Krankheiten *)	11	11	.	.	.	5	2	3	1	.	9	.	1	1
	Summe aller Fälle	113	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
	Tuberkulose überhaupt einschließlich der Gefährdeten (Reihen 2—13)	86	84	1	1	.	44	8	29	5	.	17	17	49	3

*) Mikrosporie, Myodegeneratio cordis, Hysterie, Gonorrhöe, Bronchitis.

Zeichenerklärung: — = negativ; ? = verdächtig; + = positiv; E = Eigenhemmung; Lh = Lecithinhemmung, d. h. komplette Hemmung im Röhrchen, das nur Lecithinaufschwemmung statt Antigen enthält. Ein solches Resultat ist diagnostisch ebensowenig zu verwerten wie „Eigenhemmung".

In einigen Fällen haben wir nur die Wassermannsche Luesreaktion und die Wassermannsche Tuberkulosereaktion angesetzt,

Tabelle II.

	Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann-Luesreaktion			Wassermann-Tuberkul.-Reaktion		
			—	?	+	—	?	+
1	Völlig gesund	1	1	.	.	.	1	.
2	Spitzenkatarrh	1	1	.	.	.	.	1
3	Nicht aktiv	1	1	.	.	1	.	.
4	Aktiv	2	2	.	.	1	.	1
5	Offene Tuberkulose	4	4	.	.	2	.	2
6	Tabes	1	.	1	.	.	.	1
6	Andere Krankheiten *)	1	1	.	.	.	1	.
	Summe aller Fälle	11	.	.	.	.	.	.
	Tuberkulose überhaupt (Reihen 2—5)	8	8	.	.	4	.	4

*) Myodegeneratio cordis, 70-jähr. Frau.

In einer weiteren Reihe von Fällen wurden nur Lues- und Besredka-Reaktion geprüft.

Tabelle III.

	Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann-Luesreaktion			Besredka-Reaktion			
			—	?	+	—	?	+	E
1	Völlig gesund	3	2	.	1*)	.	.	2	1*)
2	Gesund, aber gefährdet	3	3	.	.	.	.	3	.
3	Infiziert	1	1	.	.	.	.	1	.
4	Nicht aktiv	1	.	.	1	.	.	.	1

*) 1 Kind von $3^3/_4$ Jahren, klinisch und anamnestisch gesund, reagierte Wassermann-Luesreaktion positiv, Besredka-Eigenhemmung. Wir rechnen es zu den ‚Gesunden".

In 2 weiteren Fällen aktiver Tuberkulose fiel die WaTbR.[1]) positiv, die Besredka-Reaktion 1mal ?, 1mal — aus. Die allein angesetzte WaTbR. gab in je 1 Falle von Spitzenaffektion und Hilusdrüsen positive Ausschläge. In 7 Fällen, die nur mit Besredka-Antigen geprüft wurden, hatten wir folgende Resultate: gesund 1 +; gefährdet (4 Fälle) 3 +, 1 —; infiziert 1 +; Verdacht 1 +.

Fassen wir die sämtlichen Fälle zusammen, so ergeben sich folgende Resultate:

Tabelle IV*).

	Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann-Luesreaktion			Wassermann-Tuberkul.-Reaktion			Besredka-Reaktion		
			—	?	+	—	?	+	—	?	+
1	Völlig gesund	9	7	.	1	1	3	1	2	1	4
2	Gesund, aber gefährdet	10	6	.	.	3	.	.	2	.	8
3	Tuberkuloseverdacht	5	4	.	.	3	.	.	2	2	1
4	Infiziert	6	5	.	.	3	.	1	1	.	4
5	Hilusdrüsen	4	3	.	.	2	1	1	.	1	2
6	Spitzenaffektion	6	4	1	.	2	2	1	1	2	2
7	Nicht aktiv	9	8	.	1	6	.	2	3	1	3
8	Aktiv	30	28	.	.	13	4	11	6	8	13
9	Geschlossene Tuberkulose	4	4	.	.	3	1	.	1	.	3
10	Offene Tuberkulose	32	31	.	1	12	.	18	2	3	22
11	Hämoptoë	1	1	.	.	.	.	1	1	.	.
12	Bauchfelltuberkulose	1	1	.	.	.	.	1	.	.	1
13	Pleuritis sicca	1	1	.	.	1	.	.	.	1	.
14	Lues (inkl. Tabes)	13	4	4	5	9	2	1	11	1	.
15	Andere Krankheiten	12	12	.	.	5	3	3	9	.	1
16	Tuberkulose überhaupt einschließlich der Gefährdeten (Reihen 2—13)	109	96	1	2	48	8	36	19	18	59
17	Gesund und krank ausschließlich Tuberkulose und Lues (Reihen 1 u. 15)	21	19	.	1	6	6	4	11	1	5

*) Die diagnostisch nicht verwertbaren Resultate „Eigenhemmung" und „Lezithinhemmung" sind in dieser Tabelle der Uebersichtlichkeit halber fortgelassen.

Zunächst fallen die positiven Ergebnisse bei Gesunden auf. 4mal gab die Besredka-Reaktion positiven Ausfall (einer von diesen Fällen war auch nach WaTbR. positiv, die anderen konnten infolge Materialmangels nicht nach Wassermann geprüft werden), 3mal gab die

1) WaTbR. = Wassermannsche Tuberkulosereaktion.

WaTbR. ein verdächtiges Resultat (einmal bei gleichem Ausfall der Besredka-Reaktion).

Auch bei Seren von Kranken mit den verschiedensten nichttuberkulösen Affektionen erhielten wir mitunter mehr oder minder stark positive Ausschläge, ohne daß irgendwelche Zeichen einer tuberkulösen Infektion vorlagen. Während dies bei der Besredka-Reaktion nur 1mal vorkam in einem Falle von Herzfehler, hatten wir bei der WaTbR. außer in diesem Falle noch 5 stärker oder schwächer positive Ausschläge, und zwar handelte es sich in diesen Fällen um: 2mal Mikrosporie, 1mal Asthenie, 1mal Typhusverdacht und 1mal Myodegeneratio cordis.

Wesentliche Anhaltspunkte für die Bewertung der beiden Reaktionen geben ferner die Versuche mit Seren von Syphilitikern. Der negative Ausfall der Luesreaktion in 4 der von uns untersuchten Blutproben ist auf die Behandlung zurückzuführen; die Sera stammten von kongenital luetischen Kindern und von Prostituierten. Die Besredka-Reaktion gab nur in einem Fall einen verdächtigen Ausfall, was gegenüber unserer früheren Technik eine erhebliche Abnahme der unspezifischen Resultate bedeutet. Hingegen hatten wir bei der WaTbR. 2mal ein verdächtiges, 1mal ein positives Ergebnis zu verzeichnen; in dem nach Besredka verdächtigen Falle ergab die WaTbR. Lezithinhemmung.

Es fiel uns auf, daß ein beträchtlicher Teil der klinisch nicht begründeten positiven Resultate mit Seren von Kindern erhalten wurde. Wir haben, um diese Verhältnisse genauer zu prüfen, die Ergebnisse der Versuche mit Seren von Kindern bis zu 10 Jahren besonders zusammengestellt.

Tabelle V.
Säuglinge und Kinder bis zu 10 Jahren.

	Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann-Luesreaktion			Wassermann-Tuberkul.-Reakt.				Besredka-Reaktion			
			—	?	+	—	?	+	Lh	—	?	+	E
1	Völlig gesund	5	4	.	1	.	1	1	.	.	.	3	1
2	Gesund, aber gefährdet	11	8	.	.	5	.	.	.	3	.	7	1
3	Infiziert	3	3	.	.	1	.	1	.	.	.	3	.
4	Aktiv	2	1	.	.	1	.	1	.	.	1	1	.
5	Offene Tuberkulose	2	2	.	.	2	.	.	.	1	.	.	.
6	Lues	3	1	1	1	2	.	.	1	2	1	.	.
7	Andere Krankheiten	3	3	.	.	1	.	2	.	3	.	.	.
8	Tuberkulose überhaupt einschließlich der Gefährdeten (Reihen 2 bis 5)	18	14	.	.	9	.	2	.	4	1	11	1
9	Gesund und krank ausschließlich Tuberkulose und Lues (Reihen 1 und 7)	8	7	.	1	1	1	3	.	3	.	3	1

Wir finden bei den Gesunden 1 positives und 1 verdächtiges Resultat bei der WaTbR. und 3 positive bei der Besredka-Reaktion. Diese Kinder standen im Alter von $1^3/_4$ bis $5^3/_4$ Jahren. Die Kinder mit „anderen Krankheiten" litten sämtlich an Mikrosporie, das Alter

betrug bei allen 10 Jahre; hier gab die WaTbR. 2mal einen positiven Ausschlag, während die Besredka-Reaktion in allen 3 Fällen negativ war.

Wir müssen also vornehmlich bei Kindern ein besonders häufiges Versagen verzeichnen. Und gerade hier wäre eine Reaktion, die mit Sicherheit das Bestehen einer tuberkulösen Erkrankung anzeigt, von allergrößter Bedeutung. Der Wert der Frühdiagnose braucht an dieser Stelle nicht betont zu werden; es darf aber daran erinnert werden, daß die Pirquetsche Reaktion nur in den ersten 2 Lebensjahren beweisenden Wert besitzt, daß dagegen bei größeren Kindern nur noch der negative Ausfall diagnostisch von Bedeutung ist.

Die von uns geprüften serodiagnostischen Methoden füllen diese Lücke bisher nicht aus; sie zeigen beide gelegentlich einen positiven Reaktionsausfall, den wir als irrig und als Folge einer noch unzureichenden Methodik ansprechen müssen; denn wir halten es nicht für berechtigt, in diesen Fällen auf Grund unseres serologischen Befundes eine „aktive Tuberkulose" anzunehmen, wie v. Wassermann es bei seiner Reaktion will. Seine Ansicht, daß bei Unstimmigkeiten zwischen der klinischen und der serologischen Diagnose (WaTbR) diese im positiven Falle ausschlaggebend sei, können wir nicht für begründet halten.

Betrachten wir noch einmal die zusammenfassenden Reihen der Tabelle IV unter Zurechnung der verdächtigen zu den positiven Fällen (die ? — Fälle in Klammern).

Tabelle VI.

Klinische Diagnose	Zahl der Fälle	Wassermann-Tuberk.-Reakt.		Zahl der Fälle	Besredka-Reaktion	
		—	+ (davon?)		—	+ (davon?)
Tuberkulose aller Stadien einschließlich der Gefährdeten	92	48	44 (8)	96	19	77 (18)
Gesund und krank ausschließlich Tuberkulose und Lues	16	6	10 (6)	17	11	6 (1)
Lues	12	9	3 (2)	12	11	1 (1)

Aus dieser Tabelle ergibt sich: Uebereinstimmung zwischen Klinik und serologischem Verhalten nach Wassermann 59mal unter 120 Fällen, d. h. rund 50 Proz., Differenz 61mal, also ebenfalls rund 50 Proz. Uebereinstimmung zwischen Klinik und serologischem Verhalten nach Besredka 99mal unter 125 Fällen, d. h. rund 80 Proz., Differenz 26mal, d. h. rund 20 Proz.

Aus diesen Zahlen ergibt sich zunächst eine beträchtliche Ueberlegenheit der Besredka-Reaktion mit unserer Technik; insbesondere erfaßt sie die Tuberkulösen in viel höherem Maße als die WaTbR. Wenn es richtig ist, daß v. Wassermanns Reaktion nur die aktiven Prozesse nachweist, so wäre dies Verhalten vielleicht nicht so erstaunlich. Stellen wir deshalb die zweifellos aktiven Krankheitsprozesse der Tabelle IV in ihrem serologischen Verhalten noch einmal nebeneinander (Reihen 8, 10, 11, 12, 13):

Auch hier also zeigt die Besredka-Reaktion eine größere Ausbeute an positiven Ergebnissen. Die früher besprochenen Zahlen lehren, daß diese Ueberlegenheit im positiven Sinne nicht etwa durch eine erhöhte Unspezifität erkauft wird. Im Gegenteil: die Höhe des Fehlers ist auch bei Gesunden und an anderen, nichttuberkulösen Erkrankungen

Tabelle VII.

Wassermann-Tuberkulose-Reaktion				Besredka-Reaktion			
Zahl der verwertbaren Resultate	Ausfall			Zahl der verwertbaren Resultate	Ausfall		
	—	?	+		—	?	+
61	26	4	31	57	9	12	36

leidenden Personen für die Wassermannsche Tuberkulosereaktion größer als für die Besredka-Reaktion. Für die Verwendung in der Praxis ist die WaTbR in ihrer jetzigen Form noch nicht brauchbar, aber auch die ihr überlegene Besredka-Reaktion erscheint noch weiterhin verbesserungsbedürftig.

Zusammenfassung.

1) Es wird eine Methodik der Herstellung des Besredka-Antigens und der Komplementbindungsreaktion mit diesem Antigen angegeben, die die Spezifität des Reaktionsausfalles erhöht. — 2) Mit diesem und dem von v. Wassermann empfohlenen Antigen wurde eine größere Anzahl von Blutproben Gesunder, Tuberkulöser, andersartig Erkrankter und Syphilitiker vergleichend serologisch untersucht. Hierbei zeigte die Wassermannsche Tuberkulosereaktion in etwa 50 Proz., die Besredka-Reaktion in etwa 80 Proz. Uebereinstimmung mit dem klinischen Befund. — 3) Auch bei der Erfassung nur der „aktiven" Tuberkulosen erwies sich die Besredka-Reaktion überlegen. — 4) Gesunde und andersartig erkrankte Personen zeigten nicht selten verdächtigen oder positiven Reaktionsausfall (besonders Kinder); diese Versager wurden ebenfalls bei der Wassermannschen Reaktion häufiger beobachtet als bei der Besredka-Reaktion.

Literatur.

1) v. Gutfeld u. Weigert, Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. 90. 1923. H. 3. — 2) v. Wassermann, Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 10. — 3) Silberstein, ebenda 1924. Nr. 21.

Nachdruck verboten.

Ueber Gruppenbildung bei den Diphtheriebazillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Graz, Vorstand: Hofrat Prof. Dr. W. Prausnitz, und der Universitäts-Kinderklinik in Graz, Vorstand: Prof. Dr. Fr. Hamburger.]

Von Prof. Dr. phil. et med. **Johann Hammerschmidt,**
Assistent am hygienischen Institut.

Im Verlaufe von Untersuchungen über die Verbreitung von Diphtheriebazillen an dem Krankenmaterial der hiesigen Kinderklinik ergab sich die Notwendigkeit, die im Laufe der Untersuchungen reingezüchteten Diphtheriestämme auf eine Reihe von Eigenschaften zu unter-

suchen, um eine eventuelle Identität feststellen zu können. Dabei waren es vor allem das Verhalten zur Hämolyse, die kulturellen Eigenschaften und die Agglutination, welche Interesse erwecken mußten, einerseits weil die Ergebnisse von den bisher vorliegenden Angaben in vielen Punkten abweichen, andererseits weil sich durch das Verhalten der Stämme in den verschiedenen Richtungen eine überraschende Gruppierung feststellen ließ, die vielleicht eine Rasseneinteilung des Diphtheriebazillus erlaubt, wie sie in letzter Zeit unter anderem bei den Pneumokokken durchgeführt wurde und in der Folge auch praktisch von Bedeutung geworden ist.

Was zunächst die hämotoxischen Fähigkeiten des Diphtheriebazillus betrifft, so finden sich darüber widerspruchsvolle Angaben früherer Untersucher, die sich vielleicht durch das zufällig vorliegende sehr einseitige Material und durch abweichende Untersuchungsmethoden erklären lassen. (Bekanntlich müssen wir korrekter Weise bei den hämolytisch wirkenden Bakteriengiften nach Paltauf von „Hämotoxinen" sprechen, da der Begriff „Hämolysin" für spezifische Antikörper von Ambozeptorcharakter bereits vergeben ist und die kritiklose Anwendung dieser Termini immer wieder Verwirrung stiftet.) Lubenau (1), der zuerst darüber berichtet, fand unter 7 Diphtheriestämmen 6 mit hämotoxischen Fähigkeiten, während der eine nicht hämotoxische auch sonst atypisches Verhalten zeigte. Schwoner (2) teilte mit, daß die aus septischen i. e. klinisch schwer verlaufenden Diphtheriefällen herausgezüchteten Stämme hämotoxisch wirkten, die von gewöhnlichen Rachendiphtherien gewonnenen nur wenig oder gar nicht. Dazu kommen in neuerer Zeit Befunde von Weselow (3), welche hämotoxische Wirkung bei allen 30 untersuchten Diphtheriestämmen feststellte, doch war dieses Vermögen quantitativ sehr verschieden; ebenso hämolysierten nach Costa, Troisier und Dauvergne (4) alle 90 von ihnen reingezüchteten Stämme. Die Angaben von Mandelbaum (5) und Maunu af Heurlin (6) beziehen sich auf feste Nährböden und kommen vorläufig nicht in Betracht. Von meinen seit dem Jahre 1921 isolierten und in dieser Richtung geprüften 71 Diphtheriestämmen waren 53 hämotoxisch, 18 dagegen nicht. Es ergeben sich somit auffallende Differenzen in den versehiedenen Befunden.

Zunächst konnte ich die Angaben Schwoners über Zusammenhang zwischen hoher Menschenpathogenität und hämotoxischem Vermögen nicht bestätigen, denn keiner meiner hämotoxischen Stämme wurde von septischen Erkrankungsfällen gewonnen; andererseits löste gerade einer meiner virulentesten Stämme, der beim Menschen eine schwere Diphtherie verursacht hatte, Blut absolut nicht. Das verwendete Krankenmaterial setzte sich — entsprechend dem milderen Verlauf der Diphtherie in unseren Gegenden — abgesehen von wenigen Croupfällen, fast nur aus Rachen- und Nasendiphtherien leichteren Grades zusammen, dazu kamen Abstriche von Bazillenträgern, welch letztere bei den periodisch vorgenommenen Untersuchungen der einzelnen Krankenstationen zur Beobachtung gelangten. Von den oben genannten 71 Stämmen wurden 50 (39 hämotoxische, 11 ahämotoxische) einer eingehenderen Untersuchung nach allen Richtungen unterzogen; nur von letzteren soll im folgenden die Rede sein. Von diesen erwiesen sich nur 8 als nicht tiervirulent, davon waren 6 hämotoxische und 2 nicht hämotoxische, so daß von einem Zusammenfallen der hämotoxischen Fähigkeit mit besonderer Virulenz keine Rede sein kann.

Von Bedeutung ist jedenfalls die Art der Prüfung auf Hämotoxine, und zwar zunächst die verwendete Blutart. Kaninchenblut wird am leichtesten gelöst, ähnlich ist die Wirkung auf Menschenblut, während Hammelblut der Lösung größeren Widerstand entgegenbringt; nach Schwoner würde Menschenblut an letzter Stelle stehen. Noch wichtiger ist die Art der Prüfung. Die zumeist angewendete Methode, der gewisse Zeit gewachsenen Bouillonkultur Blutkörperchenaufschwemmung zuzusetzen und nach 2 Std. Brutschrank- und 20 Std. Zimmeraufenthalt das Resultat abzulesen, ist zwar vorzüglich geeignet, quantitative Verhältnisse aufzuklären, aber zur Beantwortung der Frage, ob ein Stamm überhaupt löst, ist sie es nicht, da dabei leichtere Grade der Hämolyse nicht zur Anschauung zu bringen sind. Es ist daher zweckmäßiger, dem flüssigen Nährboden von Anfang an eine geringe Menge Blut zuzusetzen, da auf diese Weise eine Summationswirkung bei allmählich einsetzender Hämolyse erzielt wird, die der Beobachtung nicht entgehen kann. Den besten Erfolg hatte ich bei Verwendung von Röhrchen mit etwa 5 ccm der gebräuchlichen leicht alkalischen Nährbouillon, der vor der Einsaat je 2 Tropfen steril der Vene entnommenen Menschenblutes ohne jede weitere Vorbereitung zugesetzt wurden. Im Falle der Hämolyse zeigt sich nach kürzerem oder längerem Brutschrankaufenthalt über dem Sediment der Blutkörperchen eine rubinrote Wolke von Blutfarbstoff, die deutlich von der hellgelben, durch das Bakterienwachstum getrübten Bouillon absticht und sich beim Schütteln in Schlieren verteilt. Ich zog diesen Modus zur Prüfung des hämotoxischen Vermögens der Stämme an sich allen anderen vor, da mir Menschenblut immer reichlich zur Verfügung stand und am leichtesten sicher steril zu gewinnen ist. Aus dem letzteren Grunde habe ich von dem Zusatz gewaschenen Blutes zur Kulturflüssigkeit abgesehen, da beim Waschen Verunreinigungen kaum zu vermeiden sind. Der Einwurf, daß bei Zusatz nicht gewaschenen Blutes hemmende Substanzen Irrtümer verursachen könnten, erübrigt sich bei der geringen Menge des zugesetzten Blutes.

Zur quantitativen Auswertung des hämotoxischen Vermögens dagegen habe ich der zu untersuchenden Flüssigkeit eine 5proz. Aufschwemmung gewaschener Blutkörperchen zugesetzt, und zwar in der Menge von 0,5 ccm auf eine Gesamtmenge von 3 ccm Flüssigkeit; dabei verwendete ich auch hier wegen der leichten Erreichbarkeit und zur Erzielung gleichmäßiger Resultate immer Menschenblut. Zur Beobachtung blieben die Röhrchen 2 Std. bei 37° und dann über Nacht, je nach der Außentemperatur, entweder im Zimmer oder Eisschrank stehen. Daß die blutlösende Fähigkeit in flüssigen Nährböden grundverschieden ist von der lytischen Wirkung auf bluthaltigen festen Nährböden, wurde bereits — besonders in bezug auf die Vibrionen — oft betont, und es sei in diesem Zusammenhang auf die Arbeit von Baerthlein (7) hingewiesen. Tatsächlich ergab auch die Untersuchung der Diphtheriestämme auf Blutplatten nicht gut verwertbare Unterschiede, so daß in folgendem nur das Verhalten in bluthaltigen Flüssigkeiten besprochen werden soll.

Was zunächst den Vorgang anbetrifft, der sich bei Einwirkung der Diphtheriebakterien auf die Blutkörperchen abspielt, so waren in der Flüssigkeit spektroskopisch einwandfrei immer nur die Absorptionsstreifen der Oxyhämoglobine nachzuweisen, niemals die eines Abbauproduktes des Hämoglobins. Da ferner, wie die Untersuchungen im

Dunkelfeld zeigten, die direkt hämoglobinfrei gewordenen Blutkörperchen zunächst ihre normalen Konturen behalten, handelt es sich nach den Untersuchungen Baerthleins um reine Hämolyse, d. h. Austreten von Blutfarbstoff aus den Blutkörperchen, der zunächst nicht weiter verändert wird, bei erhaltenen Stromata, eine Erscheinung, die nur in flüssigen Medien zu beobachten ist. Im Gegensatz dazu unterscheidet Baerthlein weiterhin eine Hämoglobinopepsie (Veränderung des ausgetretenen Blutfarbstoffes, während Stromata auch hier noch erhalten bleiben) und eine Hämopepsie (vollständiger Abbau des Blutes); die letztgenannten beiden Prozesse spielen sich in festen Nährböden ab. Baerthlein hat verschiedene Bakteriengruppen in dieser Richtung untersucht; bei allen Gruppen ergaben sich Stämme, die entweder die eine oder die andere Fähigkeit besitzen, bzw. vermissen lassen; so ist es von Interesse, daß von 27 daraufhin untersuchten Streptokokkenstämmen keiner die Fähigkeit, reine Hämolyse hervorzurufen, besaß, wohl aber in der Hälfte der Fälle Veränderungen auf der Blutplatte verursachte.

Die Angabe, die sich mehrfach findet, daß die Diphtheriestämme in künstlichen Kulturen ihr hämotoxisches Vermögen verlieren (nach Schwoner in 3—6 Monaten), kann ich nicht bestätigen. Meine ältesten, seit etwa $2^1/_2$ Jahren im Laboratorium fortgezüchteten Stämme (alle Monate auf Ascitesagar überimpft) lösen auch heute noch, der eine oder andere vielleicht etwas schwächer, aber hämotoxisch sind sie alle. Im Gegensatz dazu waren aber auch Versuche, die hämotoxische Kraft durch Tierpassagen zu steigern, ohne sichtbaren Erfolg; ebensowenig nehmen nicht hämotoxische Stämme durch wiederholte Tierpassagen diese Fähigkeit an.

Die nächstliegende Frage ist die nach dem Mechanismus der hämotoxischen Wirkung. Daß diese Fähigkeit der blutlösenden Diphtheriestämme nicht auf dem Vorhandensein eines seitens der Bakterien abgesonderten und in der Aufschwemmungsflüssigkeit nachweisbaren löslichen Stoffes beruht, war schon den ersten Bearbeitern der Frage wahrscheinlich, denn alle Filtrationsversuche verliefen in dieser Richtung ergebnislos. Auch mir ist es niemals gelungen[1]), in den Filtraten verschieden alter Kulturen auch nur Spuren dieses hypothetischen Hämotoxins nachzuweisen. Von größtem Interesse sind in dieser Richtung die Untersuchungen von Bach (8) über Hämotoxine des Proteus; mit Beziehung auf dessen erschöpfende Darstellung kann ich mich hier kurz fassen . Dort liegen die Verhältnisse insofern anders, als durch die Filtration das Hämotoxin zwar sehr stark abgeschwächt wird, aber noch nachweisbar bleibt. Da mit der Filtration immerhin eine Abschwächung oder Aufhebung der Wirkung des fraglichen Stoffes denkbar wäre, so kommt, wie auch Bach betont, die Ausschleuderung der Bakterien aus der Flüssigkeit als sicherste, dabei aber nicht eingreifende Methode zur Trennung der Bakterien von den gelösten Stoffen in Betracht. Während Bach wegen der außerordentlichen Beweglichkeit der Proteus-Bakterien damit nicht zum Ziel (vollkommen bakterienfreie Flüssigkeit) gelangen konnte, ist dieses Ziel bei Diphtherie sehr leicht in kurzer Zeit — Zentrifugieren durch etwa 10 Min. genügt — zu erreichen. Wenn man bei Bouillonkulturen auf dem Höhepunkt der Hämotoxinbildung durch energisches

1) Mit Rücksicht auf die gebotene Kürze sei hier von einer Wiedergabe der Versuchsprotokolle abgesehen.

Zentrifugieren die Bakterien von der Nährflüssigkeit trennt, so zeigt die klare Bouillon keine Spur von hämotoxischer Wirkung, während das Bakteriensediment, mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, stark hämolysiert, und zwar ebenso stark wie die ganze gewachsene Bouillon (in Hinkunft als „Vollbouillon" bezeichnet). In Ausnützung dieser Tatsache habe ich fernerhin bei meinen quantitativen Untersuchungen meist nur mit diesem abzentrifugierten Bakteriensediment, das ich nachher mit einer der ursprünglichen Nährflüssigkeit gleichen Menge Kochsalzlösung aufschwemmte, gearbeitet, da ich auf diese Weise den nicht abzuschätzenden Einfluß der verschiedenen in der Bouillon enthaltenen Substanzen ausschalten konnte.

Ebenso wie bei Proteus war auch bei Diphtherie weiterhin eine Isolierung des hämotoxischen Agens durch Dialyse unmöglich; auch in dieser Richtung waren die Verhältnisse bei meinen Diphtheriestämmen übersichtlicher als bei Proteus. Die Außenflüssigkeit zeigte keine Spur von hämotoxischer Wirkung, wenn sie frei von Bakterien geblieben war; zeigte sich außen Hämolyse, dann konnte man auch Diphtheriebazillen in der Außenflüssigkeit nachweisen.

In gleicher Weise wie die Bouillonkulturen wirken auch die von festen Nährböden (Ascitesagar, Loeffler-Serum) mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmten Diphtheriebakterien; allerdings ist die Wirkung solcher Aufschwemmungen geringer, als die der Sedimente gewachsener Bouillonkulturen. Einen Vorzug des Loeffler-Serums in dieser Richtung, wie Schwoner behauptet, kann ich nicht bestätigen, im Gegenteil waren die Abschwemmungen von Agar und Ascitesagar hämotoxischer als die von Loeffler-Serum.

Schon aus diesen Tatsachen, daß Filtrieren, Dialyse und vor allem das Zentrifugieren keinerlei lösliche wirksame Substanzen erkennen lassen, muß geschlossen werden, daß zur hämotoxischen Wirkung die Anwesenheit der Bakterien selbst, und zwar, wie die weiteren Untersuchungen ergeben haben, lebender Bakterien nötig ist. Damit kommen wir zu einem vielumstrittenen Punkt, der ebenfalls in der zitierten Arbeit von Bach über Proteus eine ausgedehnte Erörterung erfahren hat. Die Verhältnisse liegen hier bei der Diphtherie nur insofern klarer, als weder mit der Filtration, noch mit dem Zentrifugieren ein auch nur spurweiser Uebergang einer lösenden Substanz in die Flüssigkeit nachzuweisen ist. Wenn schon die Unwirksamkeit des Filtrates wegen der möglichen Abschwächung der Substanz beim Durchgang durch das Filter nicht als Beweis gegen das Vorhandensein einer solchen gelten kann, so müßten doch beim Zentrifugieren, das bei der Diphtherie eine restlose Trennung von Bakterien und Nährflüssigkeit erlaubt, mindestens Spuren der angenommenen Substanz in der abzentrifugierten Flüssigkeit nachzuweisen sein. Auch Costa, Troisier, und Dauvergne waren übrigens schon zu dem Schluß gekommen, daß durch die Ergebnisse der Filtration und „Sedimentation" ein Uebergang von hämolytischen Substanzen in die Nähr- resp. Suspensionsflüssigkeit zweifellos auszuschließen sei.

Was nun weitere Einzelheiten der Blutlösung anbelangt, so fand auch ich, wie bereits früher Schwoner, zunächst in bezug auf das zeitliche Auftreten der Hämotoxine, daß sich ihr Höhepunkt nach etwa 48 Std. Brutschrankaufenthalt zeigt. Auch bei diesen Versuchen wies die abzentrifugierte Nährflüssigkeit nach dieser Zeit (wie weder vorher noch nachher) keinerlei hämotoxisches Vermögen auf, während

die „Vollbouillon“ sowie die ausgeschleuderten und mit Kochsalz aufgeschwemmten Bakterien nach 2 Tagen Wachstum am stärksten hämolysierten. Bei Proteus tritt der Höhepunkt der Hämolyse nach Bach schon nach wenigen Stunden ein. Nach 3mal 24 Std. läßt dieses Vermögen der Diphtheriebazillen nach, um nach 5mal 24 Std. gänzlich zu verschwinden. Daß die Unwirksamkeit solcher alter Kulturen nicht etwa auf der Anwesenheit von hemmenden Stoffen in der Bouillon beruht, zeigt sich durch Zugabe abzentrifugierter Nährlösungen verschiedenen Alters zur Mischung wirksamer hämotoxischer Bakterien plus Blutaufschwemmung; dabei war niemals irgendeine Hemmung (im Gegensatz zu den Behauptungen von Weselow) festzustellen. Mit gleicher Versuchsanordnung konnte gezeigt werden, daß sich auch in der Nährflüssigkeit nicht hämotoxischer Diphtheriebazillen keinerlei Hemmungssubstanzen finden; auch in größeren Dosen ließ derartige Bouillon die Hämolyse unbeeinflußt.

Nichtlösende Stämme lassen auch bei längerer Einwirkung rote Blutkörperchen ganz unverändert, da diese selbst nach 2tägigem Beisammensein mit solchen Stämmen und folgendem Abzentrifugieren durch hämotoxische Stämme glatt gelöst werden. Scheinbar ist das Vermögen der Blutkörperchenlösung ein recht beständiges; wenn nämlich ein lösender Stamm 48 Std. in Blutbouillon gezüchtet wird und dabei die Blutkörperchen fast ganz gelöst hat, so ist er nach dem Abzentrifugieren imstande, neu zugesetztes Blut quantitativ in gleichem Maße zu lösen, wie der gleiche Stamm, der 48 Std. in blutfreier Bouillon gezüchtet war. Es ist somit trotz fortwährender Einwirkung auf Blutkörperchen das Lösungsvermögen durchaus nicht verringert.

Die Angabe von Schwoner, daß durch die Züchtung in Bouillon, der Pferdeserum zugesetzt ist, eine verlorene hämolytische Kraft wiederhergestellt wird, ließ sich insofern bestätigen, als bei schwächer lösenden Stämmen durch das Wachstum in Pferdeserumbouillon meist eine Verstärkung der Wirkung bei quantitativer Auswertung festzustellen war; diese Verstärkung war zwar bei manchen Stämmen schon nach einer solchen Passage kenntlich, bei anderen aber auch nach 3 oder 4 Passagen nicht deutlich, somit ein sehr wechselndes Verhalten. Als neu kann ich beifügen, daß die genannte verstärkende Wirkung nicht nur bei Züchtung in Bouillon mit Pferdeserum, sondern auch und noch dazu viel stärker in solcher mit Rinderserum zu erkennen ist. Andere verwendete Sera zeigen diesen fördernden Einfluß nicht. Nicht lösende Stämme gewinnen die Fähigkeit aber auch durch lange Züchtung in Serumbouillon niemals.

Zusatz von Cholesterin, das nach Noguchi die Ursache der lösungswidrigen Eigenschaften des Serums darstellt, hemmt auch in verhältnismäßig geringen Mengen die Hämolyse seitens der Diphtheriebazillen. Auffällig ist dabei, daß diese Hemmung zwar bei abzentrifugierten und mit Kochsalzlösung aufgefüllten Bakterien deutlich war, viel weniger beim Zusatz von Vollbouillon. Offenbar wird hier das Cholesterin von anderen Substanzen gebunden und kommt dadurch nicht ganz zur Wirkung. Ebenso hat aber auch Lezithin, das als Aktivator für die hämolytische Fähigkeit verschiedener Gifte — zuletzt konnte Aoki (9) damit bei seinen Untersuchungen über den Magensaft der Seidenraupen diesem durch Lezithin beträchtliche hämolytische Fähigkeit verleihen — bekannt ist, stark hemmende Wirkung auf die „Hämotoxine“ der Diphtheriekulturen. Demgegenüber konnte Bach bei Proteus keine Hemmung durch Lezithin feststellen.

Von Interesse war das Verhalten meiner hämolysierenden Stämme zum Pepton. Walbum (10) hat bekanntlich festgestellt, daß Peptonzusatz die hämolysierende Wirkung verschiedener Bakterien steigert, und zwar bis zu einem Peptongehalt von 5 Proz., darüber hinaus macht sich die gegenteilige Wirkung geltend, Angaben, die bezüglich ihrer Wertung sehr verschiedener Auffassung begegneten. Wenn ich stark lösende Diphtheriestämme nach 2 Tagen Wachstum in Bouillon abzentrifugierte und mit Kochsalzlösung, der in steigender Menge Pepton zugesetzt war, auffüllte, so ergab sich tatsächlich durch das Pepton eine mäßige Förderung der Hämolyse, und zwar am deutlichsten bei einem Peptongehalt von etwa 2 Proz., bei höherer Konzentration nicht mehr. Wenn ich jedoch die Bakterien von vornherein in Bouillon mit abgestuftem Peptongehalt wachsen ließ und nach 2 Tagen die hämotoxische Wirkung quantitativ auswertete, zeigte sich kein Unterschied gegenüber den in Normalbouillon gewachsenen Bakterien. Mit Rücksicht auf die bisher noch nicht geklärte Wirkung des Peptons seien diese Befunde nur registrierend erwähnt.

Zusatz verschiedener Sera hemmt, wie zu erwarten, die Hämolyse. So hemmt z. B. noch 0,1 ccm Pferdeserum die ohne diesen Zusatz komplett lösende Dosis 48stünd. Bouillonkultur. Geringer ist die Wirkung von Kaninchenserum, das unter gleichen Verhältnissen erst von 0,5 ccm an hemmt. Dabei war es bei letzterem Serum ganz gleich, ob die Tiere (zwecks Erzielung agglutinierender Sera) mit hämotoxischen Diphtheriestämmen vorbehandelt waren oder nicht; vielfach hemmten sogar die Sera nicht vorbehandelter Tiere deutlicher. Das im Handel befindliche Diphtherieheilserum konnte zu diesen Versuchen wegen seines Karbolgehaltes nicht herangezogen werden. Uebrigens hat schon Schwoner im Heilserum den völligen Mangel an „Antihämolysinen“ feststellen können, was bei der Natur der beschriebenen hypothetischen Bakterienhämotoxine nicht verwundern kann. Ich konnte die gleichen Verhältnisse auch mit Menschenseren zeigen, da sowohl das Serum gesunder als auch das diphtheriekranker und von Diphtherie genesener Menschen in ihrer hemmenden Fähigkeit keinen Unterschied aufwiesen; alle hemmten in gleicher Weise in Mengen von 0,1—0,2 ccm die Hämolyse fast vollständig; geringere Mengen waren in dieser Richtung unwirksam. Dieser Mangel an Antihämolysinen in Immunseren resp. die fehlende Funktion, solche zu bilden, liefert ein zwingendes Argument gegen die Antigennatur des hypothetischen „Hämotoxins“ der Diphtheriebakterien.

Der naheliegende Versuch, durch Herstellung von Extrakten aus den Bazillenleibern (verwendet wurden verschiedene Methoden wie die von Landsteiner [11], Fukuhara [12], etc.) das lösende Prinzip zu gewinnen, blieben durchweg erfolglos; derartige Extrakte lösten auch in großen Dosen nicht. Dieses Ergebnis war vorauszusehen, da jeder Eingriff, der das Absterben der Bakterien zur Folge hat, auch die Hämolyse sistiert, selbst wenn er in schonendster Weise vorgenommen wird. Jedes Erwärmen über 52°, jede Spur zugesetzten Desinficiens hat den Verlust der hämotoxischen Fähigkeit zur Folge. Ebenso hatte ein weiteres Erhitzen auf 100°, womit Bach bei Proteus in Analogie zu anderen Untersuchungen ein teilweises Wiedergewinnen der hämotoxischen Kraft erzielen konnte, bei Diphtherie keinen Erfolg. Um den Einwand zu vermeiden, daß durch alle diese Eingriffe auch ein Ferment, das man als Ursache der hämotoxischen

Wirkung annehmen könnte, geschädigt würde, verwendete ich zur Abtötung der Bakterien ein Desinficiens, welches Fermente nicht schädigt, nämlich Fluornatrium (als 1proz. Lösung), jedoch mit demselben Erfolg. Endlich sei noch erwähnt, daß ähnlich wie die Wirkung von Desinfektionsmitteln auch die Adsorption von sonst stark lösenden Bakterienaufschwemmungen an Kohle die lytische Wirkung aufhob.

Das „Hämolysin" ist somit nach den angeführten Befunden an die lebendigen Bakterienleiber gebunden, und es erhebt sich nun die Frage, worauf die hämotoxische Wirkung verschiedener Diphtheriestämme beruht. Wegen der gebotenen Kürze verweise ich bezüglich dieses rücksichtlich anderer Bakterienarten vielfach behandelten Themas auf die Ausführung von Bach. Wir konnten feststellen, daß in dem Fall der Diphtheriebazillen kein von den Bakterien abgesondertes Gift die Ursache sein kann, dafür sprechen eindeutig die Ergebnisse der Filtration und des Zentrifugierens, ebenso wie durch das Fehlen von antihämotoxischer Wirkung der Immunsera der Antigencharakter des „Giftes" negiert wird. Von weiterhin als ursächliches Moment der Blutlösung in Frage kommenden unspezifischen Einflüssen sind nach den angeführten Untersuchungsergebnissen osmotische Aenderungen der Kulturflüssigkeit (Wirkung der mit Kochsalzlösung abgeschwemmten Bakterien!) und Reaktionsänderungen durch Bildung von Säure und Alkali (Unwirksamkeit der abzentrifugierten Bouillon) zweifellos auszuschließen. Es bleibt somit nur die „direkte Einwirkung" der Bakterien, von der allerdings Bach meint, daß es schwer verständlich wäre, worin diese Einwirkung bestehen könnte.

Es lag nahe, an die Möglichkeit eines Zusammenhanges von Hämolyse und elektrischer Ladung der Blutkörperchen zu denken, wie ein solcher bereits durch Michaelis und Takahaski (13) für andere Hämolyseformen angenommen wurde. Es wäre nicht von der Hand zu weisen, daß durch den Zusatz der Bakterien die Blutkörperchen eine Umladung erfahren und die Hämolyse als Folge eines Zusammenflockens der Zellkolloide im isoelektrischen Punkt eintritt. Dazu müßte natürlich als Voraussetzung ein Unterschied in der Ladung hämotoxischer und nichthämotoxischer Bakterienstämme bestehen. Orientierende Ueberführungsversuche sowie Adsorptionsversuche mit verschieden geladenen Adsorbentien ließen jedoch keine nennenswerten Unterschiede in den Ladungsverhältnissen erkennen, so daß auch dieser Erklärungsversuch nicht herangezogen werden kann. Ob es schließlich möglich wäre, nach von Wunschheim (14) eine katalytische Einwirkung der Bakterien anzunehmen, oder nach Kruse (15) dennoch an abgesonderten Hämotoxinen festzuhalten, die „nur viel vergänglicher sind, als die hämolytischen Stoffe, die wir durch Filtration usw. von den lebenden Bakterien trennen können", sei dahingestellt. Wahrscheinlich ist die letztere Annahme nach dem Ergebnis der Zentrifugierversuche nicht; bei der ersteren dagegen mangelt uns die richtige Vorstellung für die Begriffe. Uebrigens sei ergänzend bemerkt, daß Dernby und Siwe (16) auch für die proteolytische Fähigkeit der Diphtheriebazillen keine extrazellulären Fermente nachzuweisen vermochten.

Bevor ich auf die Schilderung der kulturellen Verhältnisse eingehe, sei betont, daß ich zu diesen Untersuchungen nur solche Stämme herangezogen habe, welche die 5 „Kardinaleigenschaften" aufwiesen, die wegen ihrer Regelmäßigkeit als Kriterien für die Zugehörigkeit zur Gruppe der echten Diphtheriebazillen (Schmitz [17]) gelten:

1) entsprechende Form und Lagerung, 2) entsprechendes Verhalten bei der Färbung nach Neisser, 3) Wachstum in tiefem Agarstich, 4) Säuerung im Thielschen Nährboden, 5) Meerschweinchenvirulenz. Nur in letzterem Punkte zeigen von den 50 Stämmen 8 eine Abweichung, da sie bei der üblichen intrakutanen Virulenzprüfung im Tierkörper keine Nekrose, sondern nur Infiltrate verursachten, somit nicht als vollvirulent gelten können. Doch waren sie nach allen ihren anderen Eigenschaften zweifellos als echte Diphtheriebazillen anzusprechen, 6 davon außerdem hämotoxisch; vielleicht hätten sie sich bei einer anderen Art der Virulenzprüfung, wobei größere Bakterienmengen zur Verwendung kommen, auch noch als tiervirulent erwiesen; dazu fehlte mir das Tiermaterial. Da es mir darauf ankam, nur echte Diphtheriestämme zu untersuchen, wurden von vornherein bei der Reinzüchtung alle die Stämme ausgeschaltet, die auch nur in einem Punkte Zweifel an ihrer Zugehörigkeit zu echten Diphtheriebazillen erweckten.

Zunächst wurde, von der irrigen Annahme ausgehend, daß vielleicht die während des Wachstums in dem Nährboden hervorgerufene Reaktionsänderung Ursache der Hämolyse sein könnte, das Verhalten der beiden Gruppen (hämotoxisch und ahämotoxisch) in bezug auf Säure-Alkalibildung geprüft. Bisher war trotz verschiedener einschlägiger Arbeiten in dieser Frage keine Einigung zu erzielen gewesen; die Ergebnisse der einzelnen Untersucher waren zu schwankend. Zuletzt hatte Lubenau (18) nachgewiesen, daß der Grund der wechselnden Säurebildung der Diphtheriebazillen in Bouillon der wechselnde Gehalt an Glykogen und Glukose des Fleisches sei, daß hingegen in sicher kohlehydratfreier Bouillon (z. B. nach vorheriger Verdauung durch Bacterium coli) alle Diphtheriebazillen Alkali produzieren. Diese letztere Angabe kann ich bestätigen. Verwendete ich zur Kultur nach dem Vorschlage von Th. Smith Bouillon, in der Bact. coli 48 Std. gewachsen war, nach entsprechender Sterilisierung, so veränderten die Diphtheriebazillen nach 4 Tagen Wachstum die Reaktion gar nicht. (Zum Gebrauch kamen bei diesen Versuchen immer 5 ccm der betreffenden Bouillon, die nach der entsprechenden Zeit mit $^1/_{10}$ N-Natronlauge gegen Phenolphthalein titriert wurde.) Daß bei meinen Versuchen in der Bouillon keine nennenswerte Alkalibildung gegen die Befunde Lubenaus eintrat, rührt davon her, daß die verwendete Bouillon statt mit Rindfleisch mit menschlichen Plazenten zubereitet war und daher in bezug auf die Kohlehydrate eine andere Zusammensetzung aufwies.

Dagegen ergab sich ein auffallender Unterschied zwischen den verschiedenen Diphtheriestämmen, wenn sie in gewöhnlicher, leicht alkalischer Bouillon kultiviert und diese Proben am 4. Tage titriert wurden. Ohne auf die komplizierten Verhältnisse der Säurebildung einzugehen, sei nur der Zustand zu diesem Zeitpunkte ins Auge gefaßt. Es zeigten dann alle hämolytischen Diphtheriestämme Alkalibildung, während von den 11 ahämolytischen nur 3 Alkali bildeten, dagegen die übrigen 8 Säure (siehe Tabelle). Daß diese 8 Stämme auch sonst eine biologische Zusammengehörigkeit aufweisen, wird weiterhin gezeigt werden. Im Gegensatz dazu bildeten in 1 Proz. Traubenzuckerbouillon die hämotoxischen Stämme nach 4 Tagen reichlich Säure, die genannten 8 ahämolytischen Stämme dagegen in viel geringerem Maße. Es kann kein Zweifel sein, daß die letztgenannten Stämme andere Kohlehydrate angreifen, als die hämolytischen, oder mindestens

die gleichen Kohlehydrate in anderer Form abbauen. Vielleicht ist in dem geschilderten Moment die Differenz in den Literaturangaben über Säurebildung der Diphtheriebazillen begründet. Das Verhalten bei längerem Aufenthalt in Bouillon kommt dabei, wie erwähnt, nicht in Betracht.

Noch auffälliger ist der Unterschied, den das Wachstum dieser beiden Gruppen in gewöhnlicher Bouillon zeigt. Während alle hämolytischen und die 3 erwähnten ahämolytischen Stämme die Bouillon nach 48 Stunden mehr oder weniger trüben, ließen die 8 ahämolytischen, am 4. Tage in Bouillon Säure aufweisenden Stämme die Bouillon vollkommen klar mit einem kleinbröckeligen Bodensatz, wie es typische Streptokokkenkulturen zeigen. Der Kürze halber sei dieses letztere Verhalten in Bouillon mit dem Buchstaben „γ" bezeichnet. Unter den die Bouillon trübenden Stämmen ließen sich wieder 2 Gruppen feststellen: einmal solche, welche die Bouillon gleichmäßig dicht trüben, ohne einen auffallenden Bodensatz aufzuweisen („α"), und solche, welche neben reichlichem Bodensatz eine weniger dichte Trübung zeigen („β").

Ferner ergibt das Verhalten auf gewöhnlichem Nähragar (1 Oese Bouillonkultur strichweise auf einer Agarplatte aufgetragen) weitere Unterschiede (siehe Tabelle). Wir können 3 Formen von Kolonien unterscheiden: 1. kreisrunde, von regelmäßigem Rand umgebene, dichte, halbkugelige Kolonien (etwa ähnlich einer Staphylokokkenkolonie), weiterhin mit „a" bezeichnet, 2. zarte, rundliche Kolonien, mit unregelmäßig gekerbtem Rand, flach, wenig dicht, granuliert, wie aus kleinen Bröckeln zusammengesetzt, weiterhin als „c" bezeichnet, 3. als Uebergang zwischen den Extremen „a" und „c" eine mit „b" bezeichnete Kolonieform, die meist ein dichteres Zentrum und einen breiten vorgelagerten, der Form „c" entsprechenden Saum aufweist, im übrigen auch größer ist als die „c"-Kolonien.

Es ließ sich nun feststellen, daß ein Teil der hämotoxischen Stämme (und zwar 16) nur die „a"-Form auf Agar entwickelte, daß dieselben Stämme Bouillon gleichmäßig stark trübten („α") und in gewöhnlicher Bouillon am 4. Tag Alkali bildeten, sie seien mit „A" bezeichnet (siehe No. 1 der Tabelle). Von den ahämolytischen Stämmen zeigen 5 nur die „c"-Form auf Agar; sie lassen die Bouillon klar („γ"), bilden bis zum 4. Tag Säure („C", No. 3 der Tabelle). Diese beiden Gruppen sind somit vollkommen einheitlich und bleiben auch weiter so. Von den übrigen Stämmen waren noch 6, welche auf Agar nur die „b"-Form entwickelten, in Bouillon leichte Trübung verursachten (β) und nach 4 Tagen Alkali bildeten; wir wollen sie mit „B" bezeichnen; 2 von ihnen fehlt das hämolytische Vermögen. Alle übrigen Stämme (Nr. 4 und 5 der Tabelle) stellen Mischungen der Kolonieformen a, b und c dar, und zwar sind entweder nur 2 oder auch alle 3 Formen in einem Stamm gemischt (als „M" bezeichnet). Eine Trennung der verschiedenen Einzelkolonien aus einer derartigen Mischung ist mir trotz vielfacher und recht mühseliger Versuche niemals gelungen. Jedesmal spaltete der isolierte Typ bei Uebertragung auf Agar wiederum in die einzelnen Komponenten auf. Darauf hat u. a. Neisser (19) hingewiesen, da es auch ihm nicht gelang, aus einem Stamm die verschiedenen Kolonieformen dauernd isoliert zu gewinnen. Offenbar haben ihm nur solche Mischungsstämme vorgelegen. Vielleicht wäre dieses Ziel auf dem Wege von Einzellkolonien zu erreichen, ein Verfahren, das aber bei Diphtherie

nicht ausführbar ist. In neuester Zeit soll es allerdings Powell (20) gelungen sein, nach einer amerikanischen Methode, Einzellkulturen bei Diphtherie zu erzielen.

Während nun 20 der M-Stämme hämolytisch waren, sind die 4 übrigen Mischungsstämme von besonderem Interesse (Nr. 4 der Tabelle), da sie im Gegensatz zu der eben erwähnten Gruppe nicht hämolysierten. Bei 3 von ihnen überwog weitaus die Kulturform c, während a und b in den Hintergrund traten, dementsprechend ließen diese Stämme die Bouillon klar (γ), bildeten Säure und hämolysierten nicht; alle diese Fähigkeiten scheinen eben mit der Kolonieform „c" enge verbunden zu sein. Der 4. Stamm dagegen (1949) bildete Alkali und unterschied sich auch sonst von der großen Gruppe der M-Stämme nur durch das Fehlen des blutlösenden Vermögens.

Die geschilderten differenten Kulturergebnisse bei Diphtheriestämmen (a und α, c und γ) wurden von Zupnik (21) bereits 1897 beschrieben, allerdings nicht im Zusammenhang mit hämatoxischer Fähigkeit und auch nicht, wie weiterhin auseinandergesetzt werden wird, mit ihrem agglutinatorischen Verhalten. Diese Angaben Zupniks wurden einer genauen Nachprüfung unterzogen, einerseits von Schick und Ersettig (22), andererseits von Slawyk und Manicatide (23). Beide Arbeiten bestätigen wohl die Angaben von Zupnik, lehnen aber die von ihm gefolgerte Gruppenbildung ab, da die Kulturunterschiede nicht konstant seien, vielmehr sich die Formen ineinander überführen lassen. Diese differenten Angaben sind nach obigen Ausführungen erklärlich. wenn man annimmt, daß die Nachuntersucher eben Mischtypen, die ja weitaus die Mehrzahl aller Diphtheriestämme darstellen, zur Verfügung hatten. Inwieweit die geschilderten Eigenschaften des bekanntlich sehr variationsfreudigen Diphtheriebazillus beständig sind, kann ich nicht entscheiden; finden wir doch bei ansonsten sehr beständigen Bakterienformen viel größere Variationsbreiten. Immerhin haben sich die genannten Stämme bei ihrem etwa 2 Jahre dauernden Laboratoriumsleben, jedoch bei regelmäßiger Ueberimpfung auf Ascitesagar, nicht geändert. Der Vollständigkeit wegen sei erwähnt, daß auch Bärthlein (24) sowie Bernhardt und Paneth (25) auf der 7. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie über differente Kolonien im Formenkreis des Diphtheriebazillus berichten, die jedoch nur aus älteren Bouillonkulturen erhalten und die als Mutationserscheinungen aufgefaßt wurden.

Die bisher besprochene Gruppenbildung ließ sich endlich auch bei der serologischen Untersuchung auf Agglutination bestätigen. In bezug auf die Agglutination sind die Literaturangaben noch viel widersprechender als über die „Hämotoxine". Mit Rücksicht auf die gebotene Kürze will ich von detaillierten Angaben absehen und verweise diesbezüglich auf die Arbeit von Langer (26), welche die bis zum Jahre 1916 vorliegenden Befunde zusammenfaßt. Es läßt sich daraus entnehmen, daß die meisten Autoren eine Vielheit von Rezeptoren annehmen, so daß also meist nur eine Agglutination mit dem homologen Serum zu erzielen war; erst durch Anwendung polyvalenter Sera [Schwoner (27)], van Riemsdijk (28) u. a.] ließ sich eine Agglutination aller untersuchten Diphtheriestämme erzielen, doch ergaben sich auch hier große Differenzen im Agglutinationsgrad. Langer hat dann 2 Gruppen von Diphtheriebazillen unterschieden; die einen sind agglutinabel, die anderen inagglutinabel, beide Gruppen hätten gleichen An-

tigencharakter und gleichen Rezeptorenapparat, so daß man mit den inagglutinablen Stämmen Sera erzeugen kann, die zwar nicht den homologen Stamm (weil er eben inagglutinabel ist), wohl aber die agglutinablen Stämme agglutinieren. Nebenbei bemerkt, waren die agglutinablen Stämme solche, die Bouillon klar ließen, also meiner Gruppe „C" entsprechen dürften, während die inagglutinablen die Bouillon diffus trübten.

Auf diese Angaben Langers folgte eine Reihe von Arbeiten, welche sich mit einer serologischen Gruppeneinteilung der Diphtheriebazillen beschäftigen; durchwegs waren jedoch die sonstigen biologischen Eigenschaften der differenten Stämme nicht genügend in Betracht gezogen worden. Zunächst hat Durand (29) 4 serologische Typen mittels univalenter Pferdesera aufgestellt, wozu noch eine Anzahl Stämme kam, die er auf diese Weise nicht einreihen konnte; nebenbei ließ sich ein Parallelgehen mit der Vergärungsfähigkeit gegen bestimmte Zuckerarten feststellen. Dann folgte Havens (30) mit 2 serologischen Gruppen (82 Proz. der Stämme gehören zu der einen, 18 Proz. zu der anderen Gruppe), ferner Bell (31) mit 3, Powell (32) mit 8, Eagleton und Baxter (33) mit 10, Scott (34) mit 8 und endlich Smith (35) mit 7 Gruppen.

Uebergehend zu meinen eigenen Untersuchungen, ist zunächst zu bemerken, daß ich bei der Herstellung geeigneter Bakterienaufschwemmungen keinerlei Schwierigkeiten begegnete. Ich stellte mir zunächst in wenig Kochsalzlösung durch sorgfältiges Verreiben mit einer Oese von dem Rasen einer 24stünd. Kultur auf schrägem Aszitesagar eine dichte Emulsion her, verdünnte durch Zusatz weiterer Kochsalzlösung und filtrierte durch Filtrierpapier. Auf diese Weise erhielt ich eine vollkommen homogene, leicht trübe Aufschwemmung, die auch nach 24stünd. Aufenthalt im Brutschrank in den Kontrollen keinerlei Agglutination vortäuschte. Stämme, die auf diese Art keine brauchbaren Aufschwemmungen lieferten, habe ich nie getroffen. Es entfiel daher die Notwendigkeit, die von verschiedenen Autoren angegebenen Kunstgriffe zur Herstellung von Bazillenemulsionen, wie Erhitzen der Aufschwemmung auf 50 und mehr Grade, Zusatz von Glyzerin, Züchtung auf besonderen Nährböden etc. zur Anwendung zu bringen. Die Agglutination setzte ich (das gleiche Verfahren wendet übrigens auch Langer an) in Blockschälchen an, da mir diese Methode seit Jahren bei der Widalschen Probe ausgezeichnete Resultate ergeben hat und besonders den Vorzug besitzt, daß man unter dem Mikroskop mit schwacher Vergrößerung schon nach kurzer Zeit auch zarte Reaktionen erkennen und mit absoluter Sicherheit von unspezifischen Verklumpungen, Verschleimungen etc. unterscheiden kann. Der Vorzug der Blockschälchenmethode wird übrigens auch sonst durch eine Mitteilung von Ishiwara (36) erklärlich, der nachweisen konnte, daß jede Agglutination um so rascher und sicherer erfolgt, je geringer die Tiefe der Flüssigkeitsschicht, d. h. je größer die Oberfläche im Verhältnis zur Höhe der Flüssigkeit ist. Offenbar hängt die 2. Phase der Agglutination (die eigentliche Flockung) eng mit den Verhältnissen der Oberflächenspannung zusammen). Die Proben blieben 3 Std. bei 37° und wurden, nachdem sie die übrige Zeit im Zimmer gestanden waren, am nächsten Morgen abgelesen. Christiansen (37) hielt die Agglutinationen bis zu 24 Std. bei 52°; ich sah von der erhöhten Temperatur keinerlei Vorteil.

Zur Herstellung der Immunsera verwendete ich Kaninchen, denen die betreffenden Stämme in steigenden Dosen intravenös injiziert

wurden. Die von 24 Std. alten Ascitesagarkulturen gewonnenen Bakterienaufschwemmungen wurden vorher bei 54°—56° abgetötet, da ich anfänglich trotz aller Vorsicht bei Verwendung lebender Kulturen, auch bei gleichzeitiger Injektion von Diphtherieheilserum — in der jetzigen Zeit besonders schwerwiegende — Verluste hatte. Ich verzichtete bei Verwendung abgetöteter Bakterien natürlich auf die Gewinnung hochwertiger Sera, doch agglutinierten meine Immunsera den homologen Stamm immerhin noch in Verdünnungen 1:800—1000; viel kräftiger waren auch die Sera anderer Autoren nicht, soweit es sich um Kaninchensera handelte.

Die Eignung der mir zur Verfügung stehenden Stämme war in bezug auf die Fähigkeit, agglutinierende Sera zu erzeugen, zwar recht verschieden, aber ich fand keinen Stamm, der ein für den homologen Stamm unwirksames, dagegen andere Stämme agglutinierendes Serum erzeugt hätte. Ich kann somit nach meinen Befunden die Angaben Langers nicht bestätigen. Falls ein Stamm ein wenig wirksames Serum (ganz unwirksam war keines) lieferte, bezog sich diese geringe Agglutinationskraft auf alle damit geprüften Stämme; es war viel naheliegender, diesen allfälligen Mißerfolg nicht in einem Fehlen der antigenen Wirkung zu suchen, als vielmehr auf den Serumspender zurückzuführen.

Mit einigen wenigen der zahlreichen derart hergestellten Sera konnten nun folgende Befunde erhoben werden (siehe Tabelle): Das Serum, hergestellt mit einem hämolytischen M-Stamm, der somit alle 3 Agarkulturformen in sich vereinigt, agglutiniert zunächst alle M-Stämme (23 an der Zahl). Ferner agglutiniert es alle Stämme der Gruppen B und C, läßt aber alle Stämme, welche reine A-Formen darstellen, vollkommen unbeeinflußt. Dagegen wurden alle A-Stämme (bis auf 3, welche sich überhaupt von keinen der hergestellten Sera agglutinieren ließen, außer von dem betreffenden homologen) ausnahmslos von dem Serum 3605 agglutiniert, das mit einem typischen hämolytischen A-Stamm erzielt wurde. Weiterhin hat dieses Serum 3605 alle B- und alle M-Stämme agglutiniert mit Ausnahme der 3 ahämolytischen M-Stämme (Nr. 4 der Tabelle), die sich ja schon durch das Vorwiegen der c-Kolonien und dementsprechend durch Säurebildung, Fehlen der Hämolyse und Wachstum in Bouillon von den anderen M-Stämmen auszeichnen. Ebensowenig hat dieses Serum 3605 die reinen C-Stämme beeinflußt. Endlich ließen sich alle C-Stämme und die oben genannten 3 ahämolytischen M-Stämme durch ein Serum agglutinieren, das mit einem typischen C-Stamm (1900) hergestellt war und das die A- und B-Stämme auch nicht in Spuren, dagegen den einen oder anderen M-Stamm agglutinierte.

Auf diese Weise ließ sich mit nur 3 verschiedenen Seren die bereits geschilderte, auf den biologischen Merkmalen der Hämolyse, der Säurebildung und Kulturform beruhende Gruppeneinteilung auch serologisch bestätigen. Wir sehen zunächst eine scharf umschriebene Gruppe von Diphtheriestämmen (A-Gruppe), die stark hämolytisch sind, einheitliche Kolonieformen auf Agar bilden, Bouillon gleichmäßig trüben unter gleichzeitiger Alkalibildung und deren Vertreter alle durch ein mit einem der Ihren hergestelltes Serum agglutiniert werden. 3 Stämme aus dieser Gruppe allerdings fallen aus der Reihe, da sie zwar typische A-Stämme darstellen, aber von dem genannten Serum nicht beeinflußt werden. Aber auch der Versuch,

mit einem dieser Stämme ein Serum herzustellen, lieferte nur ein für den homologen Stamm wirksames Immunserum. Eine 2. gut umgrenzte Gruppe stellen die C-Stämme dar, die ahämolytisch sind, einheitliche c-Form auf Agar und in Bouillon, die sie klar lassen, bis zum 4. Tage Säure bilden; sie werden alle durch ein Serum, das mit einem Vertreter dieser Gruppe (1900) hergestellt wurde, bis zur Titergrenze agglutiniert.

Außer diesen beiden Extremen stehen nun die übrigen Gruppen in einer gewissen serologischen Verwandtschaft, da sie gemeinsam von einem M-Stamm (1221) ausgeflockt werden, nämlich die Gruppen B, C und M, was bei der Vereinigung aller geschilderten biologischen Eigenschaften in dem zur Serumgewinnung verwendeten Stamm kaum verwunderlich erscheint. Auffällig ist nur das Versagen dieses Serums gegenüber den Vertretern der A-Gruppe, wohingegen das A-Serum (3605) für alle anderen Gruppen wirksam ist, außer für die C-Gruppe. Dem letzteren Befund entspricht auch sehr gut die Tatsache, daß die 3 M-Stämme (10816, 2822, 11242), in deren Bestand die Eigenschaften der C-Gruppe überwiegend zur Geltung kommen, sich gegen das A-Serum vollkommen refraktär verhalten, dagegen von dem C-Serum gut agglutiniert werden. Da somit die Wirksamkeit der gruppenspezifischen Sera 3605 (A-Gruppe) und 1900 (C-Gruppe) streng auf die zugehörige Gruppe beschränkt ist und die Stämme der jeweiligen anderen Gruppe völlig unbeeinflußt läßt, haben diese beiden Gruppen sicher keine Rezeptoren gemeinsam. Bezüglich der übrigen Gruppen und vor allem wegen des teilweisen Uebergreifens der 3 geprüften Seren auf heterologe Typen liegen die Verhältnisse komplizierter. Gewiß sind in verschiedenem Maße gemeinsame Rezeptoren vorhanden, weiterhin ist anzunehmen, daß deren Zahl nicht groß ist und daß sie in den verschiedenen Gruppen in verschiedenen Sortimenten vereinigt sind. Ueber diese Verhältnisse kann naturgemäß die direkte Agglutination weniger Aufschluß geben, als ausgedehnte Absorptionsversuche mit einer größeren Anzahl von Seren, über die ich baldigst zu berichten hoffe. Die Schwierigkeit liegt bei den einschlägigen Untersuchungen daran, zur Serumgewinnung geeignete Stämme zu finden. Im Anschluß sei noch bemerkt, daß die Anwendung der Säureagglutination zur Unterscheidung selbst der am weitest abstehenden Gruppen (A und C) kein Ergebnis hatte; übrigens wurde die Säureagglutination schon von Beniasch (38) zur Unterscheidung von Diphtherie- und Pseudodiphtheriebazillen ohne Erfolg herangezogen.

Wenn nun zu den früher erwähnten Arbeiten über serologische Typeneinteilung der Diphtheriebazillen Stellung genommen werden soll, so ist schon aus der Verschiedenheit der Zahl der gefundenen Gruppen (z. B. nach Havens 2, nach Eagleton und Baxter 10, um nur die Extreme zu nennen), zu erkennen, daß offenbar die Einteilung auf Grund der Agglutination allein unzuverlässig ist. Daß die Berücksichtigung anderer prominenter biologischer Eigenschaften, vor allem der Hämolyse, im Verein mit dem serologischen Verhalten die Grundlage für eine viel natürlichere Einteilung liefern kann, sollte im Vorstehenden gezeigt werden. Ansätze dazu finden sich, wie bereits erwähnt, in der Gruppeneinteilung von Durand.

Von Interesse ist eine zum Abschluß dieser Arbeit erschienene Veröffentlichung von Meyer und Löwenberg (39), in der die Autoren eine Gruppeneinteilung der Colibazillen auf Grund eines Parallelgehens

von Hämolysinbildung, serologischer Eigenart und Virulenz vornehmen. Während aber bei den Diphtheriebazillen Hämolyse und Agglutination in engen Beziehungen stehen, ist dies hier mit der Virulenz nicht der Fall, denn ich finde hochvirulente und weniger virulente Stämme in allen Gruppen; auch die wenigen nichtvirulenten Stämme teilen sich in dieser Weise auf.

Eine andere Frage stände jedoch zur Diskussion. Es wurde mit Rücksicht auf die mehrfach von anderer Seite durch Agglutination getroffene Typeneinteilung der Diphtheriebazillen auch die Einheitlichkeit des von verschiedenen Stämmen gebildeten Toxins bezweifelt und damit in Zusammenhang die mögliche Unwirksamkeit eines heterologen Antitoxins angenommen. Wie besonders die Untersuchungen amerikanischer Autoren [Paxson und Redowitz (40), Powell (41)] zeigten, besteht ein derartiger Unterschied zwischen den untersuchten Agglutinationstypen (Einteilung nach Havens) nicht. Da Havens nur 2 Gruppen der Diphtheriebazillen aufstellt, müßten diese Untersuchungen nach meinen Ergebnissen auf breiterer Basis wieder aufgenommen werden.

Fernerhin hat in jüngster Zeit Pesch (42) seine Untersuchungen über Einteilung der Diphtheroideen auf Grund der Form der Bakterien auf Loeffler-Serum, Neigung zur Polkörnerbildung, Säurebildung mit verschiedenen Zuckerarten und Wachstum auf Blutagar veröffentlicht. Ich habe die ersten beiden Momente schon in bezug auf die rein morphologische Typeneinteilung der Diphtheriebazillen von Wesbrook sowie die alte Unterscheidung der französischen Autoren in „lange" und „kurze" Stäbchen bei der Untersuchung der von mir aufgestellten Gruppen herangezogen; irgendwelche beständige Merkmale konnte ich bei meinen Gruppen in dieser Richtung jedoch nicht feststellen, da besonders die Bildung der Polkörner bei ein und demselben Stamme ein viel zu wechselndes Verhalten zeigte.

Endlich sei noch erwähnt, daß in der letzten Zeit bei einer Reihe anderer Bakterienarten ein Zusammengehen ganz ähnlicher biologischer Eigenschaften, wie ich es eben für Diphtherie beschrieben habe, gefunden wurde. So schildert De Kruif (43) bei Pasteurella-Formen auf Agar „gekörnte" und „glatte" Kolonien; während erstere beim Wachstum die Bouillon klar lassen und einen körnigen Bodensatz bilden, zeigen letztere in Bouillon dichte Trübungen; mit diesen kulturellen Eigenschaften soll das serologische Verhalten und die Virulenz parallel gehen. Eine ganz ähnliche Merkmalkoppelung beschreiben ferner Arkwright (44) für Shiga-Bazillen, Schütze (45) für Vertreter der Salmonella-Gruppe, Griffith (46) für Pneumokokken, Topley und Ayrton (47) für Bact. enteritidis. Bei den Diphtheriebazillen käme nur an Stelle der Virulenz das höchst wichtige Merkmal der Hämotoxinbildung dazu. Jedenfalls ist das Zusammentreffen der gleichen Eigenschaftskombinationen bei so weit abstehenden Bakterienarten sehr auffällig.

Zusammenfassung.

Bei der Untersuchung von 50 echten Diphtheriestämmen konnte gezeigt werden, daß diese sich gesetzmäßig nach ihrem hämotoxischen Verhalten, nach ihren kulturellen Eigenschaften auf Agar und in Bouillon, der Säure- resp. Alkalibildung in letzterer zu einem bestimmten

Zeitpunkt und endlich in bezug auf ihre serologischen Eigenschaften hinsichtlich der Agglutination unterscheiden. Auf Grund ganz bestimmter Bindung dieser Merkmale ließ sich vorläufig eine Einteilung in 5 Gruppen zwanglos erzielen.

		Gruppe	Hämolyse	Bezeichnung der Stämme	Säure oder Alkali am 4. Tage	Bouillon	Agar	Serum, hergestellt mit Stamm		
								1221 M, häm.	3605 A, häm.	1900 C, ahäm.
1	hämolytische Gruppe A rein	A	+	9456, 1175, 11 341, 3605, 9032, 11 844, 4647, 1418, 2218, 5161, 5538, 6111, 11 037 (13)	Alkali	α	a	○	+	○
				10 658, 1618, 76 (3)				○	○	○
2	Gruppe B rein	B	+	9904, 10 415, 2738 Köppl (4)	Alkali	β	b	+	+	○
			○	10 357, 1476 (2)						
3	ahämolytische Gruppe C rein	C	○	1900, 12 403, 4791, 6150, DM (5)	Säure	γ	c	+	○	+
4	Mischungsgruppe ahämolytisch	M	○	10 816, 2822, 11 242 (3)	Säure	γ	c, a, b	+	○	+
				1949 (1)	Alkali	β	a, b, c	+	+	○
5	Mischungsgruppe hämolytisch	M	+	10 818, 1221, 1226, 4039, 9251, 11 052, 335, 987, 993, 2131, 2134, 4020, 4399, 4953, 5098, 5630, 6719, 7646, 5195 (19)	Alkali	β und α	a, b, c wechselnd gemengt	+	+	wechselnd

Literatur.

1) Lubenau, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1901. — 2) Schwoner, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. — 3) Weselow, nach Russky Wratsch. 1913. Refer. in Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 60. 1914. — 4) Costa, Troisier et Dauvergne, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 81. 1918. — 5) Mandelbaum, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 53. 1910. — 6) Maunu af Heurlin, Münch. med. Woch. 1914. S. 702. — 7) Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 74. 1914. — 8) Bach, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1921. — 9) Aoki, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. — 10) Walbum, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 3. 1909. — 11) Landsteiner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1908. — 12) Fukuhara, Arch. f. Hyg. Bd. 71. 1909. — 13) Michaelis u. Takahashi, Biochem. Zeitschr. Bd. 29. 1910. — 14) von Wunschheim, Arch. f. Hyg. Bd. 54. 1909. — Kruse, Allgem. Mikrobiol. Leipzig 1910. — 16) Dernby u. Siwe, Biochem. Zeitschr. Bd. 134. 1922. — 17) Schmitz, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. — 18) Lubenau, Arch. f. Hyg. Bd. 66. 1908. — 19) Neisser, 7. Mikrobiologentag. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. — 20) Powell, Amer. Journ. Hyg. Vol. 3. 1923. — 21) Zupnik, Berl. klin. Woch. 1897. Nr. 50. — 22) Schick u. Ersettig. rend. Soc. de Biol. T. 81. 1918; T. 84. 1921. — 30) Havens, Journ. of inf. Baxter, ibid. Vol. 22. 1923. — 34) Scott, Rep. on the Publ. Health and Med. Wien. klin. Woch. 1903. Nr. 35. — 23) Slawyk u. Manicatide, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 29. 1898. — 24) Baerthlein, 7. Mikrobiologentag. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. — 25) Bernhardt u. Paneth, 7. Mikrobiologentag. Ebenda. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. — 26) Langer, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 78.

1916. — 27) Schwoner, Wien. klin. Woch. 1902. Nr. 48. — 28) von Riemsdijk, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 75. 1915. — 29) Durand, Compt. rend. Soc. de Biol. T. 81. 1918; T. 84. 1921. — 30) Havens, Journ. of Inf. Dis. Vol. 26. 1920. — 31) Bell, Journ. Roy. Arm. Med. Corps. Vol. 38. 1922. — 32) Powell, Amer. Journ. of Hyg. Vol. 3. 1923. — 33) Eagleton and Baxter, ibid. Vol. 22. 1923. — 34) Scott, Rep. on the Puhl. Health and Med. Subj. Vol. 22. 1923. — 35) Smith, Journ. of Hyg. Vol. 22. 1923. — 36) Ishiwara, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. — 37) Christiansen, Le bacille de la diphthérie. Paris (Doin) 1923. — 38) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 12. 1912. — 39) Meyer u. Löwenberg, Klin. Woch. 1924. S. 836. — 40) Paxson and Redowitz, Journ. of Immunol. Vol. 7. 1922. — 41) Powell, Amer. Journ. of Hyg. Vol. 3. 1923. — 42) Pesch, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. — 43) de Kruif, Journ. of exp. Med. Vol. 33. 1921. — 44) Arkwright, Journ. of Path. Vol. 25. 1922. — 45) Schütze, Journ. of Hyg. Vol. 20. 1921. — 46) Griffith, Rep. on the Publ. Health and Med. Subj. Vol. 18. 1922. — 47) Topley and Ayrton, Journ. of Hyg. Vol. 22. 1924.

Nachdruck verboten.

Ueber den Sauerstoffbedarf der Corynebakterien.

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Köln (Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch** und cand. med. **Hanna Gottschalk.**

Bei der bakteriologischen Diphtheriediagnose wird die Untersuchung auf Anaërobiose nur selten zu Rate gezogen, obgleich viele Lehrbücher angeben, daß die echten Loefflerschen Diphtheriebakterien (DiB) im Gegensatz zu den Pseudodiphtheriebakterien (Pseudo-DiB) zur Vermehrung den Luftsauerstoff nicht benötigen. Mit der Frage des Sauerstoffbedarfs der Corynebakterien beschäftigen sich nur wenige Arbeiten ausführlicher, so die von K. E. F. Schmitz, Heurlin, Burkhardt und Enriquez sowie Martin und Loiseau. Auch Max Neisser rechnet in seinem Referat auf der 7. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie (1913) die Untersuchung auf anaërobes Wachstum zu den für die bakteriologische Differentialdiagnostik der Corynebakterien heranzuziehenden Untersuchungsmethoden. Alle diese Forscher halten anaërobe Kulturen für geeignet, um die echten DiB von den Diphtheroideen zu unterscheiden, da nur die ersteren auch anaërob zu wachsen imstande seien.

In meinen (Pesch) bisherigen Arbeiten über Systematik und Biologie der Corynebakterien bin ich zu dem Schluß gekommen, daß wir nicht nur zwischen echten und Pseudo-DiB zu unterscheiden haben, sondern daß es eine ganze Reihe verschiedenartiger zur Corynebakteriengattung gehörender Stäbchen gibt, die ich auf Grund ihrer Morphologie, Körnchenfärbung, Wachstumsintensität und Wachstumsart auf Blutagar, Zuckervergärung in Pepton-Zuckerlösungen in 6 verschiedene Gruppen einteile: Gruppe I sind die echten Löfflerschen DiB; Gruppe II die Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-DiB. Gruppe III umfaßt eine Reihe von Bakterienstämmen, die sich alle durch sehr üppiges Wachstum auf Blutagar auszeichnen, z. B. die Lubinskischen Wund-DiB und manche der anderen vielerorts (Haut, Vagina, Nase) vorkommenden saprophytischen Diphtheroideen. Gruppe IV (Xerose-Gruppe) umschließt eine Reihe von Bakterienarten mit nur geringer Wachstums-

intensität, die hauptsächlich auf der Bindehaut, aber auch auf der Haut und auf Wunden vorkommen. Gruppe V sind alle farbstoffbildenden Corynebakterien; Gruppe VI diejenigen Diphtheroideen, die sich wegen irgendwelcher Besonderheiten nicht in die vorherigen 5 Gruppen einreihen lassen.

Wenn auch die von mir in den früheren Mitteilungen angegebenen Form- und Kulturmerkmale meines Erachtens vollkommen genügen, um diese Gruppen voneinander zu trennen, so war es doch von Interesse, Stämme der verschiedenen Gruppen auf ihre anaërobe Wachstumsfähigkeit zu untersuchen; natürlich stand von vornherein fest, daß die Ergebnisse für die praktische Di-Diagnostik nur dann von Bedeutung sein würden, wenn die vom ärztlichen Standpunkt aus besonders interessierenden echten Loefflerschen DiB (Gruppe I) sich anaërob deutlich anders verhielten als die Gruppen II bis VI.

Die derzeitigen Ansichten über Anaërobiose können wohl dahin zusammengefaßt werden, daß auch die sogenannten obligaten Anaërobier Sauerstoff benötigen, diesen aber durch fermentative Zerlegung den Nährbodenbestandteilen entnehmen. Es bestehen also zwischen Aërobiern und Anaërobiern nur quantitative, keine qualitativen Unterschiede in der Sauerstoffverwertung, und die den Tatsachen mehr entsprechenden Ausdrücke „aërophob" und „aërophil" haben sich mit Recht mehr und mehr eingebürgert.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sollen hier nur im Auszug wiedergegeben werden. Ausführlichere Tabellen sowie nähere Angaben über die angewandte Technik sind in der Dissertation von H. Gottschalk enthalten.

Auswahl der Stämme. Wir untersuchten folgende 9 Stämme: 3 Stämme der Gruppe I (virulente Loefflersche DiB; Stamm 1, 2 und 3); 2 Stämme der Gruppe II (Hofmann-Wellenhofsche Pseudo-DiB; Stamm 4 und 5); aus der Gruppe III wählten wir einen ihrer häufigsten und bekanntesten Vertreter, einen Lubinskischen Wund- oder Para-DiB, Stamm 6; Stamm 7, 8 und 9 sind Vertreter der Gruppe IV (Xerose-Gruppe). Die beiden letzten Stämme (8 und 9), unter sich gleich, unterscheiden sich durch verschiedene Kulturmerkmale von dem Stamm 7. — Die Gruppen V (Farbstoffbildner) und VI

Tabelle I.
Uebersicht über die morphologischen und physiologischen Eigenschaften der untersuchten neun Stämme.

Gruppe	Stamm Nr.	Form auf Loeffler-Serum	Polkörnchenbildung auf Loeffler-Serum	Wachstum auf Blutagar	Vergärung in Pepton-Zuckerlösung mit 1 Proz.		Virulenz
					Dextrose	Saccharose	
I	1	sehr lang, schlank	+++	+ klar	+	—	+
	2	„ „	+++	+ „	+	—	+
	3	„ „	+++	+ „	+	—	+
II	4	mittellang	—	++ weißlich	—	—	—
	5	„	—	++ „	—	—	—
III	6	mittel-kurz	±	+++ weiß	+	+	—
IV	7	mittellang, dick	±	± klar	—	—	—
	8	„ „	±	± „	—	—	—
	9	lang, „	±	± „	—	—	—

(atypische Diphtheroideen) wurden bei dieser Arbeit nicht berücksichtigt. Tabelle I zeigt die wichtigsten morphologischen und physiologischen Eigenschaften der 9 Stämme. Was die Bedeutung der einzelnen Merkmale für die Differentialdiagnostik der Corynebakterien angeht, so weise ich hier nur auf meine bisherigen, in dieser Zeitschrift erschienenen Arbeiten hin.

Angewandte Technik: Zur Prüfung der Anaërobiose wurden 3 Methoden herangezogen: I. Wachstum in Agar in hoher Schicht (Schüttelkultur). II. Die von Manteufel angegebene Kultur in Bouillon mit Zusatz von Natriumsulfid und Ueberschichtung mit Vaselin. III. Die Züchtung in Plattenkulturen mit Hilfe der Küsterschen Anaërobenschalen; Bindung des Luftsauerstoffs mit Pyrogallol.

I. Schüttelkultur in hoher Schicht.

Zur Prüfung des Wachstums in hoher Schicht wurde zunächst ein durch doppeltes Filtrieren besonders geklärter Plazentanähragar mit 1 Proz. Agar verwendet. Um bei bester Durchsichtigkeit auch feinstes Wachstum erkennen zu können, wurde in dünnwandige kleinkalibrige Uhlenhuthsche Reagenzgläser abgefüllt; die Ergebnisse wurden nach 24, 48 und 72 Std. Brutschrankaufenthalt (35° bis 37°) mit bloßem Auge, mit der Lupe und mit dem hierfür bei richtiger Spiegel- und Blendenstellung recht gut brauchbaren Agglutinoskop abgelesen. Die noch flüssigen Agarnährböden wurden in den ersten Versuchsreihen sofort von eintägigen Loeffler-Kulturen beimpft. Da aber die Gefahr bestand, daß eine durch zu massige Einsaat entstandene Trübung anaërobes Wachstum vortäuscht, oder daß die einzelnen Keime bei zu dichtem Beieinanderstehen kein Kolonienwachstum sondern nur eine diffuse Trübung zustande brächten, wurde in den weiteren Versuchsreihen eine Bouillonverdünnung zwischengeschaltet, von der dann eine Oese voll in den Agarnährboden eingeimpft wurde.

Ergebnisse: (Tabelle IIA und IIB.) Stamm 1, 2 und 3 (Gruppe I) zeigten nicht in jeder Versuchsreihe das gleiche Verhalten.

Tabelle II.
Ueberblick über aërobes und anaërobes Wachstum der 9 Stämme in verschiedenen Nährböden. (Zusammenfassung mehrerer Versuchsreihen.)

Stamm Nr.	A	B	C		D		E	
	Nähragar in hoher Schicht	Ascitesagar in hoher Schicht	Bouillon	+ Bouillon Na_2S	+ Bouillon Paraffin	+ Bouillon Na_2S + Paraffin	+ Bouillon Vaselin	+ Bouillon Na_2S + Vaselin
1	±	++	+++	++	+	±	+	±
2	±	++	+++	++	+	±	+	±
3	±	++	+++	++	+	±	+	±
4	—	—	+++	±	±	—	—	—
5	—	—	+++	±	±	—	—	—
6	++	++	+++	++	++	+	++	+
7	—	—	±	—	—	—	—	—
8	—	±	±	—	—?	—	—	—
9	—	±	±	—	—?	—	—	—

In gewöhnlichem Agar trat anaërobes Wachstum nicht regelmäßig ein. Einige Male war Wachstum nur im oberen Drittel (etwa 2 ccm) der Agarsäule feststellbar, und in ganz vereinzelten Versuchsreihen zeigte sogar nur ein ganz schmaler oberer Saum Wachstum an. Von grundlegender Bedeutung fanden wir für anaërobes Wachstum eine ziemlich alkalische Reaktion des Nährbodens (pH etwa 7,8), eine Tatsache, der ja auch Burkhardt u. Enriquez sowie Heurlin durch Zugabe von Soda zum Agar bei anaërober Züchtung von DiB in hoher Schicht Rechnung getragen haben. Jedoch auch bei richtigem pH-Wert konnten wir nicht regelmäßig ein anaërobes Wachstum unserer Stämme bis an den Boden des Reagenzglases erzielen. Stamm 4 und 5 (Gruppe II) zeigten niemals irgendwelches anaërobes Wachstum. Stamm 6 (Gruppe III) wuchs in allen Versuchsreihen anaërob. Stamm 7, 8 und 9, die Vertreter der Xerose-Gruppe, zeigten unter den angegebenen Versuchsbedingungen kein anaërobes Wachstum. Braun und Cahn-Bronner haben gezeigt, daß Paratyphus-B-Bakterien bei ungünstiger Ernährung ihr anaërobes Wachstum einstellen können. Da nun echte DiB auf gewöhnlichem Nähragar anaërob durchweg nicht üppig wachsen, lag der Gedanke nahe, die Schwäche oder auch manchmal das gänzliche Fehlen anaëroben Wachstums in einigen Versuchsreihen auf Nährstoffmangel zurückzuführen. Wir versuchten deshalb durch Verbesserung des Nährbodens ein stärkeres und regelmäßiges anaërobes Wachstum zu erzielen. Zu diesem Zwecke wurde der einfache Plazentaagar durch eine Mischung von etwa 1 Teil Ascites mit 2 Teilen Plazentaagar ersetzt. Die Versuchsbedingungen waren sonst die gleichen wie bisher. Es zeigte sich nun in der Tat, daß unter diesen günstigen Kulturbedingungen die echten DiB regelmäßig gut anaërob wuchsen (Tabelle II B), wohingegen die Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-DiB auch jetzt nie eine Spur anaëroben Wachstums erkennen ließen; Stamm 6 wuchs natürlich auch jetzt wieder stark anaërob. Stamm 8 und 9 (Xerose-Gruppe) zeigten in diesen Ascitesagar-Schüttelkulturen ein mit der Lupe erkennbares schwaches anaërobes Wachstum auch in den tieferen Teilen des Nährbodens, während bei Stamm 7, der auch bei aërobem Wachsutm, z. B. auf Blutagar, eine sehr geringe Wachstumsintensität zeigte, kein anaërobes Wachstum zu erkennen war.

II. Anaërobe Bouillonkulturen.

Unsere Untersuchungen über anaërobes Wachstum in flüssigen Nährböden (Plazentabouillon mit und ohne Zusatz von Natriumsulfid als Reduktionsmittel) bei Fernhaltung des Luftsauerstoffs durch Ueberschichtung mit Paraffinum liquidum oder Vaselin ergaben Aehnliches hinsichtlich des anaëroben Wachstums der 9 Stämme. — Zunächst zeigte es sich, daß der Zusatz von Na_2S zu aëroben Bouillonkulturen das Wachstum aller Gruppen zwar nicht sehr stark, aber doch deutlich hemmt. Bei der angewandten Konzentration (1 Tropfen einer 0,5proz. Lösung auf je 1 ccm Nährflüssigkeit) darf man also die Entwicklungshemmung nicht ganz übersehen. Da die Verteilung der tropfenweise zugesetzten Na_2S-Lösung in der Bouillon bei Verwendung der schmalen Uhlenhuth-Röhrchen Schwierigkeiten macht, haben wir zu diesen Versuchen meist breitere Reagenzgläser benutzt. — Bei dem Wachstum in den überschichteten anaëroben Kulturen fiel es ferner auf, daß, besonders in den Uhlenhuth-Röhrchen, oft nur in der unteren Hälfte des Nährbodens nach 24 Std. bei 37° Wachstum festzu-

stellen war, während die obere an das Paraffin oder Vaselin anstoßende Hälfte klar blieb. Es sei dahingestellt, ob nicht doch von den überschichtenden Substanzen irgendwelche hemmenden Stoffe in die Nährflüssigkeit übergehen (es wurde selbstverständlich nur säurefreies Vaselin verwendet). — Ferner beobachteten wir, daß bei dem anaëroben Wachstum der ersten 3 Stämme (Gruppe I) nach vorübergehender Trübung fast regelmäßig schnell (nach etwa 3 Tagen) eine vollkommene Klärung der Kultur unter Bildung eines Bodensatzes eintrat; zu einer Zeit also, wo die gleichalten aëroben Kulturen noch stark trübe waren. Auch von einer zu geringen Keimeinsaat bei Anlegung anaërober Di-Kulturen muß gewarnt werden, da nach Beimpfung von Bouillonkulturen mit DiB in den ersten Stunden eine sehr erhebliche Reduktion der eingebrachten Keime einzutreten pflegt, vielleicht bedingt durch das Fehlen des Sauerstoffs.

Bei Paraffinüberschichtung von Bouillonkulturen (mit und ohne Na_2S) zeigten die 9 Stämme unter diesen anaëroben Kulturbedingungen bedeutend schwächeres Wachstum (Tabelle II D). Die echten DiB und der Stamm 6 (Gruppe III) zeigten sich auch hier als Anaërobier, während die Pseudo-Di-Stämme 4 und 5, die wir als Aërobier kennen gelernt haben, in mit Paraffin überschichteten Bouillonkulturen ohne Na_2S-Zusatz sich noch ganz gering, in den mit Kulturen mit Na_2S-Zusatz jedoch nicht mehr vermehrten. Durch diese letzten Ergebnisse mit Stamm 4 und 5 wird die sonst schon des öfteren ausgesprochene Ansicht bestätigt, daß wir durch Paraffinüberschichtung überhaupt nicht imstande sind, den Luftsauerstoff von Nährböden gänzlich fernzuhalten. In der Na_2S-Versuchsreihe II D scheinen durch Zusammenwirken zweier Faktoren (Reduktion und Ueberschichtung) wirklich anaërobe Verhältnisse geschaffen zu sein; denn hier wurde keine Trübung der Nährlösung durch Pseudo-DiB-Stämme beobachtet.

Weil flüssiges Paraffin den Luftsauerstoff von flüssigen Kulturen nicht sicher abhält, hat Manteufel das Paraffin durch säurefreies Vaselin ersetzt. Die Doppelreihe E der Tabelle II zeigt das Verhalten vaselinbedeckter Bouillonkulturen mit und ohne Na_2S; auch hier wachsen die Stämme 1, 2, 3 und 6 anaërob, während 4 und 5 sowie die 3 Xerose-Stämme auch nach 3 Tagen keine Trübung des Nährbodens zeigten. Beachtenswert ist jedoch, daß in den flüssigen Nährböden der 3 doppel-

Tabelle III.

Quantitative Auswertung des anaëroben Wachstums dreier Bakterienstämme durch Zusatz steigender Mengen von Na_2S auf 5 ccm Nährbouillon. Zweitägiges Wachstum bei 37°.

Stämme	Ueberschichtung	Tropfenzahl 0,5-proz. Na_2S-Lösung										
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
DiB-Stamm (Gruppe I)	keine	++	++	++	++	++	+	+	+	±	±	±
	Paraffin	+	+	+	±	±	±	—?	—	—	—	—
	Vaselin	+	+	+	±	±	—?	—	—	—	—	—
Pseudo-DiB (Gruppe II)	keine	++	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Paraffin	±?	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Vaselin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Paratyphus	keine	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Paraffin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Vaselin	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

ten Versuchsreihen IIC, D, E auch die anaërob wachsenden Stämme um so schwächer wuchsen, je sauerstoffärmer wir die Kulturverhältnisse wählten. Daraus darf wohl geschlossen werden, daß die anaërob wachsenden Corynebakterien zwar bei sehr günstigen Ernährungsverhältnissen bei O-Abschluß wachsen können, daß sie aber anaërob keine optimalen Vermehrungsverhältnisse finden. Daß bei dem anaëroben Wachstum der DiB ganz andere Verhältnisse vorliegen als bei anderen auch fakultativ anaëroben Keimen, z. B. Paratyphus B-Bakterien, zeigt Tab. III; hier ist der Versuch gemacht, durch steigende Na_2S-Mengen in überschichteten und nichtüberschichteten Bouillonkulturen gewissermaßen eine quantitative Auswertung des anaëroben Wachstums dreier Stämme zu geben. Wir sehen, daß unter Bedingungen, bei denen ein Paratyphus-Stamm sich schnell und stark vermehrt, ein virulenter DiB-Stamm nicht mehr anaërob wächst. Es ist allerdings nicht möglich, bei diesen Versuchen die toxische und die reduzierende Wirkung des Na_2S zu trennen.

III. Anaërobe Kulturen in Petri-Schalen.

Bei den Versuchen über anaërobes Wachstum in Petri-Schalen unter Benutzung der Küsterschen Anaërobenschalen fußten wir hinsichtlich der Technik der O-Absorption hauptsächlich auf den Arbeiten M. van Riemsdijks. Als Nährböden wurden Plazentanähragar, Loeffler-Serum, Blutagar mit etwa 5proz. frischem Hammelblut und der von Zeißler für Anaërobier (Tetanus, Gasbrand) eingeführte Traubenzuckerblutagar benutzt. Zur Kontrolle, ob wirklich in den Kulturen anaërobe Verhältnisse herrschten, wurden auf die Zeißler-Platten 3 Tetanusstämme mitgeimpft. Auch wurde ein nach M. van Riemsdijk mit Traubenzucker-Methylenblaulösung getränkter Gazestreifen eingelegt. Die Tabelle IV A, B, C, D zeigt die Ergebnisse:

IV A. Das Wachstum der 9 Stämme in diesen aëroben Kulturen bietet das gewohnte Bild.

IV B. In diesen Kulturen scheinen noch keine vollkommen an-

Tabelle

Aërobes und anaërobes Wachstum der 9 Corynebakterien und dreier aërobenschalen, Bindung des Sauerstoffes durch steigende Mengen von KOH und

Gruppe	Stamm	I. Aërob				II. Anaërob			
		A.				B. 1,5 KOH + 0,5 Pyrogallol			
		Nähragar	Loeffler-Serum	Blutagar	Zeißler-Agar	Nähragar	Loeffler-Serum	Blutagar	Zeißler-Agar
I	1	+	+++	+	+++	±	++	+	±
	2	+	+++	+	+++	±	++	+	±
	3	+	+++	+	+++	±	++	+	±
II	4	++	+++	++	++	±	±	++	—
	5	++	+++	++	++	±	±	++	—
III	6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
IV	7	±	+	±	±	±	++	±	±
	8	±	++	±	+	±	++	±	±
	9	±	++	±	+	±	++	±	±
Tetanus	1	.	.	.	.	.	.	.	±
	2	.	.	.	.	.	.	.	±
	3	.	.	.	.	.	.	.	±

aëroben Verhältnisse vorzuliegen, trotzdem der Methylenblau-Indikator nach Oeffnung der Platten (nach 3tägigem Brutschrankaufenthalt) völlig entfärbt war; denn die sicher aëroben Stämme 4 und 5 sind noch ziemlich gut gewachsen. Im allgemeinen zeigen alle Stämme eine Herabsetzung des Wachstums im Vergleich zu den aëroben Kulturen auf denselben Nährböden. Stamm 4 und 5 sind nur auf der Zeißler-Platte nicht gewachsen; hier herrschen also wohl infolge der reduzierenden Kraft des hohen Blutgehalts stärker anaërobe Kulturbedingungen, was ja auch dadurch bewiesen wird, daß auf denselben Platten die obligat anaëroben Tetanusstämme ein, allerdings nur ziemlich schwaches, Wachstum zeigten.

IV C. In dieser Versuchsreihe sind durch Vermehrung von KOH und Pyrogallol stärker anaërobe Verhältnisse geschaffen. Auf Loeffler-Serum und Blutagar sehen wir ein mehr oder weniger deutliches Wachstum der fakultativ anaëroben Stämme 1, 2, 3 und 6; auf Blutagar auch noch der Xerosestämme 8 und 9. Auf Nähragar und Zeißler-Agar wachsen auch die echten DiB nicht mehr; auf ersterem wohl wegen ungenügender Ernährung, auf letzterem wegen zu stark reduzierender Eigenschaft des Blutgehalts.

IV D. Erhöhen wir die KOH- und Pyrogallol-Mengen noch weiter, so schaffen wir Kulturbedingungen, die zwar für die Tetanusbazillen optimal sind, den untersuchten Corynebakterien jedoch eine Vermehrung nicht mehr ermöglichen.

Weitere Untersuchungen befaßten sich mit der Frage, ob bei den echten aber avirulenten Loefflerschen DiB (also den apathogenen, sonst aber in allen biologischen Eigenschaften typischen Vertretern der Gruppe I) ein Unterschied im Sauerstoffbedarf gegenüber den virulenten Vertretern der gleichen Gruppe besteht. Bei Züchtung von 5 avirulenten echten DiB-Stämmen in Ascitesagar in hoher Schicht zeigte es sich, daß in betreff Anaërobiose virulente und avirulente echte Loefflersche DiB sich vollkommen gleich verhalten. Im gleichen Nährboden wurden weiterhin eine Reihe von Corynebakterien der

IV.
Tetanus-Stämme in Petri-Schalen und Küsterschen An-Pyrogallol.

II. Anaërob							
C. 3,0 KOH + 1,0 Pyrogallol				D. 4,5 KOH + 1,5 Pyrogallol			
Nähr-agar	Loeffler-Serum	Blut-agar	Zeißler-Agar	Nähr-agar	Loeffler-Serum	Blut-agar	Zeißler-Agar
—?	±	±	—	—	—	—	—
—?	±	±	—	—	—	—	—
—?	±	±	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	+	±	±	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	±	—	—	—	—	—
—	—	±	—	—	—	—	—
.	.	.	++	.	.	.	+++
.	.	.	++	.	.	.	+++
.	.	.	++	.	.	.	+++

Gruppe III untersucht; hier zeigte es sich, daß die in dieser Gruppe zusammengefaßten Stämme nicht nur in Form und Zuckervergärung, sondern auch im anaëroben Wachstum Verschiedenheiten zeigen, indem darunter sowohl obligate Aërobier als auch fakultative Anaërobier anzutreffen sind.

Ueberblick: Innerhalb des Genus Corynebacterium ist die Vermehrungsfähigkeit bei Sauerstoffmangel recht unterschiedlich, was wohl am besten die Abstufungen in der Tabelle III zeigen. Am meisten aërophil sind die Hofmann-Wellenhofschen Pseudo-DiB; dagegen können die echten Loefflerschen DiB sich bei einem gewissen Sauerstoffmangel vermehren. Jedoch liegt bei sämtlichen untersuchten Stämmen aller Corynebakteriengruppen das Optimum der Vermehrung sicher bei freiem Luftzutritt und nicht bei Sauerstoffmangel. Am wenigsten Sauerstoff brauchen einzelne Vertreter der Gruppe III; aber andere Stämme dieser Gruppe sind stark aërophil. Von den untersuchten Xerosebakterien wuchs nur ein Teil (Stamm 8 und 9), und nur bei sehr guter Ernährung schwach anaërob; es zeigen also auch in dieser Gruppe IV die einzelnen Vertreter Verschiedenheiten.

Bei der allgemeinen Frage, wovon es abhängt, ob ein Mikroorganismus trotz Sauerstoffmangels wächst, ist dreierlei zu berücksichtigen: 1) Das Sauerstoffbedürfnis der Art. Je größer es ist, um so schwerer kommt es zu anaërobem Wachstum. — 2) Die Wachstumsintensität der betreffenden Mikroorganismen. Je größer die Vermehrungsfähigkeit ist (z. B. Stamm 6), um so eher läßt sich unter gewissen Kulturbedingungen anaërobes Wachstum erzielen, während Stämme mit geringer Wachstumsintensität, z. B. Xerosestämme, unter den gleichen Kulturbedingungen nicht mehr anaërob wachsen. — 3) Sehr wichtig ist aber auch die Nährbodenzusammensetzung; je bessere Ernährung den Bakterien geboten wird, um so eher wachsen sie trotz Sauerstoffmangels. Umgekehrt können in nährstoffarmen Kulturen, z. B. in synthetischen Nährböden, fakultative Anaërobier sich wie obligate Aërobier verhalten. Daß Zucker und Blut in Nährböden reduzierend die Anaërobiose befördern, ist bekannt; bei anderen Reduktionsmitteln, wie Na_2S, muß man bei Ausbleiben anaëroben Wachstums an Entwicklungshemmung durch diese Stoffe denken.

Literatur.

Braun u. Cahn-Bronner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. S. 1. — Burkhardt u. Enriquez, ebenda, Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. S. 15. — Gottschalk, H., [Diss.], Köln, 1924. — Heurlin, Münch. med. Woch. 1914. S. 702. — Manteufel, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1922. S. 248. — Martin et Loiseau, Compt. Rend. Soc. Biol. T. 79. 1916. S. 677. — Neisser, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 57. 1913. Anh. S. 1. — Pesch, Karl L., Münch. med. Woch. 1924. H. 2. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. 1924. S. 27 u. S. 208. — v. Riemsdijk, M., ebenda, Abt. I. Orig. Bd. 88. 1922. S. 229. — Schmitz, K. E. F., Ztschr. f. Hyg. Bd. 75. 1913. S. 513. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 77. 1916. S. 369.

Nachdruck verboten.

Der Säurezusatz zu Gonokokkennährböden.

(Im Anschluß an Ikomas Mitteilungen über: „Die Bedeutung der Reaktion für Gonokokkennährböden".)

[Aus dem Hygienischen Staatsinstitut Hamburg. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. O. Neumann).]

Von Dr. **Friedr. H. Lorentz,** wissenschaftl. Mitarbeiter am Institut.

Die von Ikoma-Japan im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. H. 1—2 in allerjüngster Zeit erschienene Arbeit über „Die Bedeutung der Reaktion für Gonokokkennährböden" bildet eine sehr wertvolle Bestätigung meiner bereits mehrere Jahre zurückliegender Versuche über den gleichen Gegenstand. Im Jahre 1919 von mir aufgenommene Versuche hatten ergeben, daß sich durch den Zusatz von angepaßten Mengen Milchsäure zu den bekannten Gonokokkennährböden ein wesentlich besseres Wachstum der Gonokokken erzielen ließe. Nur von nachgeordneter Bedeutung war es hierbei, ob der Zusatz der Milchsäure zu einem schwachsauren, neutralen oder zu einem alkalischen Nährboden erfolgte, d. h. ob die Reaktion des Nährbodens nach dem Zusatz der Milchsäure noch alkalisch, neutral oder schwach sauer ist.

Es war natürlich von Anbeginn bei diesen Untersuchungen eine sehr wichtige Frage, ob es sich um eine spezifische Eigenschaft der Milchsäure handelte. Darum wurden im Anschluß an die ersten Veröffentlichungen Vergleichsversuche mit einer ganzen Anzahl von anderen Säuren vorgenommen. Unter diesen befanden sich auch die von Ikoma in Anlehnung an die Milchsäure verwendeten Säuren, nämlich die Normal-Zitronensäure, n-Essigsäure, n-Salzsäure und n-Schwefelsäure. Meine bereits damals erhobenen Befunde decken sich teilweise mit denen Ikomas. Hauptsächlich insofern, weil auch ich feststellen konnte, daß die Zitronensäure ebenfalls einen sehr günstigen Einfluß auf das Wachstum der Gonokokken ausübte.

Seine Resultate mit der Milchsäure und der Zitronensäure hat Ikoma an der Hand von 2 Laboratoriumsstämmen untersucht und mitgeteilt. Dagegen drückt er sich nicht genügend klar über seine Ergebnisse mit der Essigsäure aus; nur aus seinem Schlußsatze könnte man ableiten, daß er auch mit der Essigsäure günstige Resultate erzielt hatte. Außer der Milch- und Zitronensäure hat er an organischen Säuren nur noch die Essigsäure verwendet, sagt aber dort, daß jene Gonokokkenstämme, welche auf alkalischem Agar schlecht, auf Pferdeserumagar nicht gedeihen, durch Zusatz von organischen Säuren, besonders Zitronensäure, zu üppigem Wachstum angeregt werden.

So günstig aber in meinen Versuchen der Zusatz von Milchsäure, Zitronensäure, Harnsäure und einigen diesen teilweise sehr nahe verwandten Säuren war, so ungünstig blieb auf das Wachstum der Gonokokken der Zusatz von Essigsäure zu ihrem Nährboden. Selbst kleinste Essigsäuremengen, die sich wesentlich unter den Zusätzen der Zitronen- und der Milchsäure hielten, übten noch einen absolut hemmenden Einfluß auf das Gonokokkenwachstum aus.

Man darf darum nicht schlechthin von einer günstigen Einwirkung aller organischen Säuren auf das Gonokokkenwachstum sprechen. Gerade aber die Essigsäure fällt unter den organischen Säuren durch ihre so schlechten Einwirkungen auf das Gonokokkenwachstum auf. Sie wäre darum auch einmal vom therapeutischen Standpunkte aus auf diese Eigenschaft hin zu prüfen.

Auch eine Gegenüberstellung von anorganischen und organischen Säuren ist nicht angebracht. Wohl läßt sich bei der Salz- und Schwefelsäure kein fördernder, sondern eher ein hemmender Einfluß auf das Gonokokkenwachstum feststellen. Zwischen beiden selbst besteht aber zugunsten der Salzsäure schon ein ausgesprochener Unterschied, und dann beweisen die von Ikoma so sehr bewerteten Literaturangaben von Finger, Ghon, Schlagenhaufer und Turro, die saure Nährböden für Gonokokken empfehlen, zu denen seither anorganische Säuren verwendet wurden, daß die Empfindlichkeit der Gonokokken gegen anorganische Säuren nicht zu groß sein kann.

Aus meinen Untersuchungen mit dem Gonokokkenmilchsäurenährboden ging hervor, daß nur ein großes Untersuchungsmaterial an vielen Gonokokkenstämmen ein endgültiges Urteil über den Wert eines solchen Nährbodens gestatten konnte. Ikoma hat nur 2 Laboratoriumsstämme geprüft und selbst bei diesen schon wesentliche Unterschiede in der Lebens- und Wachstumskraft der Gonokokken gefunden. Da es sich ferner nicht nur um Milch- und Zitronensäure handelte und da weiter auch die Anwendungsart dieser Säuren wie bei der Zitronensäure als direkt abgepreßter Fruchtsaft oder als kristallinische Handelszitronensäure die Frage komplizierte, so kann erst nach Abschluß meiner noch im Gange befindlichen Untersuchungen ein begründetes Urteil abgegeben werden.

Außer Ikomas Arbeit liegt heute eine ganze Reihe von Erfahrungen vor, die von anderer Seite durch die Nachprüfung mit dem Milchsäurenährboden gemacht wurden. Nur in 2 Fällen waren sie als nicht befriedigend mitgeteilt. Man weiß aber, daß es nicht immer gelingt, namentlich dort nicht, wo keine jahrelange Erfahrung mit der Herstellung der Nährböden vorhanden ist, einen einwandfreien Gonokokkennährboden an sich zu bereiten. Ohne denselben geht es aber natürlich nicht. Das wäre sonst das gleiche, als wenn der Landwirt Seesand mit Harnsäure düngen wollte, um ein üppiges Aehrenmeer hervorzuzaubern.

Von den bakteriologischen Untersuchungsstellen, die sich mit der Herstellung des Milchsäurenährbodens befaßt haben, sind nur zustimmende Kritiken eingegangen. Auch wurde mir schon vor Jahresfrist von dem Vertreter des größten deutschen chemo-pharmazeutischen Werkes, das sich mit der fabrikmäßigen Herstellung von Gonokokkenvakzinen befaßt, die Mitteilung gemacht, daß seine Firma zur Bereitung ihrer Gonokokkenvakzine die Milchsäurenährböden verwendet.

Damit war der Beweis erbracht, daß sich der Gonokokkenmilchsäurenährboden bereits auch in dem praktischen Gebrauch seinen Platz erobert hatte. Das berechtigte gleichzeitig, auf diesem Wege weiterzuarbeiten, der als Endziel die optimale Zusammensetzung des Gonokokkennährbodens hatte

Ikoma hat auch darin recht, daß die Milchsäure einen verschiedenen Charakter haben kann, weil es eine ganze Anzahl von Milchsäurearten gibt. Das vermag wohl an dem Intensitätsgrad des Bakterien-

wachstums etwas zu ändern, die Grundstimmung bleibt aber dennoch dieselbe. Sie läuft darauf hinaus, daß durch den Zusatz bestimmter Säuren zu den bekannten guten Gonokokkennährböden die Gonokokken eine Förderung im Sinne ihrer Wachstumsentwicklung erfahren, genau so wie der botanische Forscher die künstlichen Düngemittel für die Wachstumsentwicklung seiner Pflanzen anwendet.

Nachdruck verboten.

„Herpetischer Zoster"? Kerneinschluss oder Kerndegeneration.

[Bemerkungen zu der gleichnamigen Arbeit von Privatdozent Dr. B. Lipschütz, Wien (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 361).]

Von **A. Luger** und **E. Lauda.**

Inhalt und Form der Darstellung obiger Arbeit zwingen uns, zu einigen Punkten der Ausführungen von Lipschütz Stellung zu nehmen.

Daß ein Herpes simplex unter Umständen eine zosterähnliche Anordnung zeigen kann, ist uns wohlbekannt und wir selbst haben auf diesen Umstand ganz ausdrücklich hingewiesen. (Seuchenbekämpfung 1924. 5/6. 1) Auf Grund der Tatsache, daß es sich in unserem Falle nur um isolierte Gruppen von Bläschen gehandelt hat, darf aber andererseits unserer Meinung nach die Diagnose eines Herpes Zoster nicht abgelehnt werden. Wir befinden uns im speziellen Fall mit unserer Diagnose in Uebereinstimmung mit den Herren der psychiatrisch-neurologischen Klinik in Wien (Hofrat Prof. Wagner-Jauregg), welche unabhängig von uns die Diagnose Herpes Zoster gestellt hatten und so liebenswürdig waren, uns aus diesem Grunde auf den Fall aufmerksam zu machen. Wenn es auch schwierig sein wird, Lipschütz von der Richtigkeit dieser Diagnose nachträglich zu überzeugen, so muß doch gesagt werden, daß der direkten klinischen Untersuchung größerer Wert beigemessen werden muß als einer epikritischen Ueberlegung. Das Ergebnis der experimentellen und immunologischen Untersuchungen gleichfalls als Beweismittel heranzuziehen, wie es Lipschütz getan hat, erscheint in diesem konkreten Falle durchaus unberechtigt, da es ja eben Zweck der Mitteilung war, zu zeigen, daß ausnahmsweise, zum ersten Mal, in einer Zosterblase das Herpes simplex-Virus nachgewiesen werden konnte, im Gegensatz zu der bisher geltenden Anschauung, die wir selbst durch frühere Untersuchungen gestützt haben.

Wir haben ausdrücklich betont, daß wir nur Eines für sicher gegeben erachten: Das gelegentliche Vorkommen des Herpes simplex-Virus in der Zosterblase. Wir haben selbst die verschiedenen Möglichkeiten der Deutung dieses Befundes eingehend diskutiert und den hypothetischen Charakter aller Schlußfolgerungen, so auch des Ausdruckes „herpetischer Zoster" und des aufgestellten Zosterschemas hervorgehoben. Ob dieses Zosterschema einen gewissen heuristischen Wert in sich birgt, oder ob dessen wissenschaftliche Bedeutung, wie Lipschütz meint, problematisch erscheinen muß, kann nur die weitere Entwicklung der Frage zeigen.

Daß an der Tatsache des Vorkommens des Herpes simplex-Virus in einer Zosterblase nicht gerüttelt werden kann, zeigt übrigens — dies sei hier nebenbei im Interesse der Klarstellung der Frage erwähnt — ein 2. Fall von Herpes zoster (und zwar thoracalis), den wir inzwischen zu untersuchen Gelegenheit hatten, in welchem die Zoster-Effloreszenzen und die klinischen Symptome so ausgeprägt waren, daß er auch der schärfsten Kritik jener Autoren, welche in der Differenzierung von echtem Herpes zoster und zosteriformem Herpes sehr weit gehen, standhält (typische Anordnung der Hauteffloreszenzen, regionäre Drüsenschwellung, Temperatursteigerungen, lange anhaltende und die Effloreszenzen überdauernde, neuralgiforme Schmerzen, deutliche Pigmentierung und Narbenbildung nach Abheilung).

Hinsichtlich der in Rede stehenden Kernveränderung möchten wir vor allem feststellen, daß wir von vornherein (Sitzungsber. d. Ges. f. inn. Med. u. Kinderheilk. vom 17. II. 1921) von einer wenigstens für die herpetische Impfkeratitis charakteristischen degenerativen Veränderung am Kern gesprochen haben, und daß wir also nicht erst später „nicht umhin" konnten, sie als solche zu bezeichnen. Ferner können wir uns mit dem Satz „Die Kernveränderung sprechen sie als „Chromatolyse" im Sinn von Heidenhain an", nicht einverstanden erklären. Wir haben zu wiederholten Malen und schon in unserer 1. Mitteilung nur davon gesprochen, daß wir die Kernveränderung mit der Heidenhainschen Degenerationsform „in Parallele setzen" und haben uns schon damals (Sitzungsber. d. Ges. f. inn. Med. u. Kinderheilk. 17. II. 1921) in der Diskussion dagegen verwahrt, daß wir die beiden Formen ohne weiteres identifizieren. In der Besprechung der Deutung der Kernveränderungen vermissen wir die gebotene Objektivität insofern, als Lipschütz nur jene Autoren anführt (Marinescu, Goodpasture und Teague), welche seine Meinung teilen. Wir legen Wert darauf, hervorzuheben, daß wir mit unserer Auffassung keineswegs isoliert dastehen, daß vielmehr unsere Anschauung seitens mehrerer Autoren vollinhaltliche Bestätigung erfahren hat. Abgesehen von der ablehnenden Haltung, die seinerzeit in Diskussionsbemerkungen zu Tage trat (Arzt, Kyrle, Oppenheim, Riehl), abgesehen ferner von der skeptischen Stellung, welche Dörr, Flexner, Friedenwald, Wohlwill u. a. einnehmen, haben sich auch in der Folgezeit eine Reihe von Forschern in ihren Publikationen in dieser Hinsicht geäußert. Paschen, dem selbst Lipschütz kaum den Vorwurf machen wird, daß sich seine Untersuchungen auf einen „eng begrenzten Bruchteil der Chlamydozoenforschung" beziehen, lehnt die Lipschützsche Deutung ausdrücklich ab. Wir zitieren ferner Fuchs und Mariani. Auch Zdansky spricht in seinen Untersuchungen zur pathologischen Anatomie der herpetischen Kaninchenencephalitis hinsichtlich der uns hier beschäftigenden Veränderungen von „Kerndegenerationsprodukten".

Auch Vegni äußert sich in einer inzwischen erschienenen Arbeit „zugunsten der Anschauungen von Luger und Lauda". Er lehnt eine biologische Gleichstellung der Kernveränderung mit den Einschlußkörpern im Sinne der Chlamydozoenlehre ab und deutet die Gebilde als Endprodukte einer Kerndegeneration. Vegni zitiert ferner die ablehnenden Arbeiten Fontanas und Gaviatis.

Herr Prof. Spielmayer, der die Güte hatte, unsere mikroskopischen Befunde zu überprüfen, äußert sich in einer brieflichen Mitteilung, zu deren publizistischer Verwertung wir in liebenswürdiger Weise ermächtigt wurden, folgendermaßen: „M. E. kann es nicht dem geringsten Zweifel unterliegen, daß Sie mit Ihrer Anschauung Recht haben, wonach es sich um einen rein degenerativen Vorgang an den Ganglienzelleo handelt; daß hier spezifische oder irgendwie eigenartige Kerneinschlüsse vorlägen, davon kann m. E. keine Rede sein".

Lipschütz wirft uns ferner vor, daß wir die histologischen Arbeiten von Unna und Kopytowski mit Unrecht mit seinen Unter-

suchungen „zusammenwerfen". Demgegenüber müssen wir wiederholen, daß in den Arbeiten Kopytowskis aus der eingehenden Schilderung und aus den beigegebenen Abbildungen nach unserer Ueberzeugung mit voller Sicherheit hervorgeht, daß es sich um identische Veränderungen handelt, welchen Lipschütz eine neue, unserer Meinung nach eben unrichtige Deutung zu geben versucht hat. Auch die Abbildungen Unnas in seinem Atlas ließen für uns keinen Zweifel bestehen, daß die Bilder die gleichen Veränderungen zeigen, und es ist daher gewiß berechtigt, die Untersuchungen von Unna und Kopytowski mit den Befunden von Lipschütz in direkte Beziehung zu setzen. Daß dies nicht unbegründet ist, geht wohl auch daraus hervor, daß auch Paschen die Befunde von Unna und Kopytowski mit den „herpetischen" Kernveränderungen in Zusammenhang bringt.

Daß eine besondere „für cytologische Zwecke geeignete Methode" zur Darstellung der Veränderungen notwendig ist, wie Lipschütz behauptet, ist unrichtig. Wir haben gelegentlich unserer Vorträge in der Ges. für innere Med. und Kinderheilk., Ges. der Aerzte u. Ges. f. Psych. u. Neur. in Wien mikroskopische Präparate demonstriert, welche bei einfachster Technik, z. B. Formolfixation und Hämalaun-Eosinfärbung, die Kernveränderung in voller Ausbildung zeigen. Bei dieser Gelegenheit haben wir sogar nachgewiesen, daß die von Lipschütz als „geeignete Methode" bezeichnete Sublimat-Alkohol-Fixation zu artefiziellen Chromatinverschiebungen an der Cornea führt, daher zum Studium der feineren morphologischen Kernveränderungen unbrauchbar ist. Wir verweisen auf die einschlägige Publikation Schaffers.

Ferner stellen wir fest, daß aus allen unseren Arbeiten hervorgeht, daß uns die zurückliegenden Versuche von Baum und anderen Autoren, welche Zosterblaseninhalt auf die Kaninchenkornea übertragen haben, bekannt waren und daß wir sie ausdrücklich in der in Rede stehenden Arbeit (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. Heft 3/4. S. 208) zitierten. Es ist uns daher ganz unverständlich, daß uns Lipschütz vorwirft, daß wir ihn als ersten bezeichnet hätten, der Herpes Zoster auf die Kaninchenkornea übertragen hat. Verständlich wird es erst, wenn wir unsere Originalarbeit mit seinem Zitat vergleichen. Wir haben (S. 209) geschrieben: „Die Fälle von Lipschütz, der als erster den Gedanken ausgesprochen hat, daß bei Herpes Zoster ein auf die Kaninchenkornea übertragbares lebendes Virus vorliegt, müssen ausführlicher besprochen werden." Lipschütz zitiert unter Anführungszeichen, also anscheinend wörtlich, (daß) „Lipschütz als erster den Gedanken hatte, Herpes Zoster auf die Kaninchenkornea zu übertragen". Hier handelt es sich, wie die Gegenüberstellung der beiden Sätze zeigt, wohl zweifellos um die Wiedergabe von Tatsachen in nicht richtiger Form und um den Mangel an Sorgfalt, die uns Lipschütz — nach unserer vollen Ueberzeugung zu Unrecht — vorgeworfen hat.

Zum Schluß möchten wir, nur um Mißverständnissen vorzubeugen, die sich aus gelegentlichen Aeußerungen Lipschütz' in seinen Arbeiten ergeben könnten, feststellen, daß unser Interesse für die Herpesfrage seinerzeit durch die grundlegende Arbeit Löwensteins wachgerufen wurde, daß wir von dieser Arbeit ausgehend die Herpesfrage vom ätiologisch-immunologischen Standpunkte aus zu bearbeiten versuchten, und uns nicht erst auf Grund der Arbeiten von Lipschütz

mit diesem Thema befaßten. Andererseits haben wir stets in vollem Maße anerkannt, daß wir erst durch die Publikation von Lipschütz über den Herpes Zoster und nach gewährter Einsicht in seine Präparate angeregt wurden, uns mit dem Kernstudium zu beschäftigen, welches übrigens nur eine Teilfrage, und wie uns scheinen möchte, keineswegs die wichtigste im ganzen Fragenkomplex des Herpesproblems darstellt.

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen von aktinomycesartigen Organismen in einem Hühnersarkom.

(Vorläufige Mitteilung.)

[Aus dem Institut für experimentelle Biologie, Moskau.]

Von **G. Roskin.**

Mit 2 Abbildungen im Text.

Es wurde von mir eine Geschwulst bei einem Huhn untersucht, die sich am Halse befand und einen Teil des Kropfes einnahm. Eine nähere Untersuchung zeigte, daß es sich um ein typisches rundzelliges Sarkom handelte.

Ein Teil der Schnitte, nach Bensley fixiert (Osmium, Kalibichromat und ein Tropfen Essigsäure), wurde mit Silber nach der Methode von Rachmanoff imprägniert. Die Untersuchung dieser Präparate bei starker Vergrößerung (Ob. 1,5; Ok. 12 oder 18) ergab das Vorhandensein kleiner und dünner Körperchen in dem sarkomatösen Gewebe (Länge 2—8 μ; Breite 0,2 μ). Die Form dieser Körperchen ist größtenteils stäbchenartig, manchmal ein wenig gewunden, vereinzelt dichotomisch geteilt. Die Wände der Körperchen sind deutlich sichtbar; ihre Farbe läßt sich auch von dem Inhalt des Körpers deutlich unterscheiden; sie sind sehr stark imprägniert. Innerhalb der Körperchen sind ziemlich große rundliche Körner zu sehen. Die Größe dieser Körner variiert in den verschiedenen Körperchen. Die Körner werden von Silber in den einzelnen Körperchen verschieden gefärbt: von hellbraun bis zu dunkelbraun oder gar schwarz. Sie liegen in den Körperchen in Reihen geordnet, von hellen Intervallen unterbrochen. Jedes Intervall hat einen Durchmesser von der Größe eines Körnchens oder auch ein wenig mehr. Die Zahl der Körner in den Körperchen ist verschieden, gewöhnlich beträgt sie 2 bis 7 (zuweilen auch mehr).

Die Körperchen liegen zum Teil innerhalb der Zellen, zum Teil interzellulär. Sie sind nicht gleichmäßig durch die ganze Geschwulst verteilt, sondern gruppenweise gelagert. In jeder Gruppe ist derjenige Teil an Körperchen reicher, der nach der Peripherie der Geschwulst gerichtet ist; in der Richtung zum Zentrum nimmt die Zahl der Körperchen allmählich ab. Die Silbermethode wurde kontrolliert durch eine Reihe von Schnitten, die mit noch anderen Methoden bearbeitet waren, dabei ergab sich, bei der Färbung nach Gram oder mit Safranin (Differenzierung mit Lugol-Flüssigkeit) dasselbe Bild, wie bei der Imprägnierung mit Silber; die Wände der Körperchen waren indes nur schwach und undeutlich gefärbt.

Auf Grund der Form, der Größe, der dichotomischen Teilung der Körperchen, der Eigenwände usw. ist der Schluß berechtigt, daß diese Körperchen zu der Gruppe der sog. „Actinomycetes“ gehören.

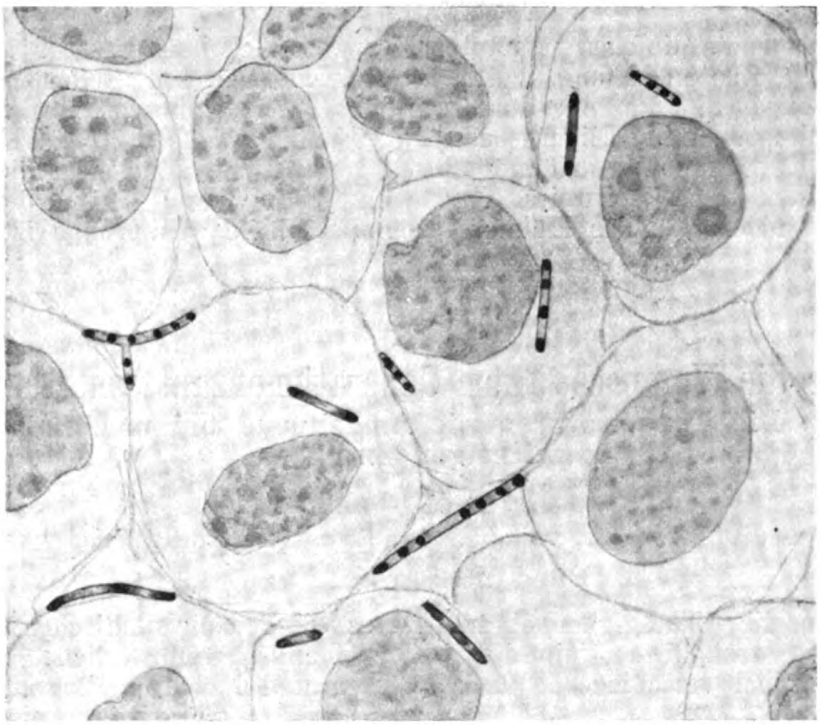


Fig. 1. Peripherie der Geschwulst. Silberimprägnation nach Rachmanoff. Vergrößerung 3500. Zeichenapparat.

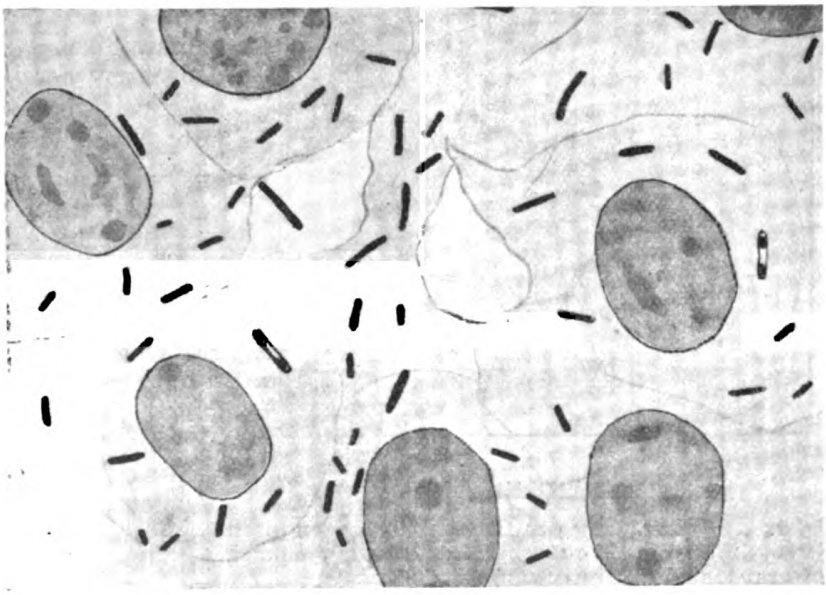


Fig. 2. Zentraler Teil der Geschwulst. Safranin, Differenzierung mit Lugolflüssigkeit. Vergrößerung 3000. Zeichenapparat.

Die runden Körnchen sind den sog. Volutinkörnchen ähnlich, die man gewöhnlich bei reifen Aktinomyceten beschreibt.

Es soll noch erwähnt werden, daß die Geschwulst keine entzündliche Reaktion auf das Vorhandensein der aktinomycetenartigen Körperchen zeigte.

Ich nenne die oben genannten Körperchen vorläufig Aneria gori.

Der Zusammenhang zwischen den sarkomätösen Zellen mit der Aneria gori kann nur durch weitere Untersuchung geklärt werden, aber die bekannten Eigenschaften der Hühnersarkome (die Fähigkeit der Ansteckung der Hühner durch getrocknete Stückchen der Geschwulst, durch zellfreies Geschwulstfiltrat usw.) legen den Gedanken nahe, daß das Hühnersarkom parasitären Ursprungs ist.

Nachdruck verboten.

Ueber die Voraussage der Generationenzahl von Insekten.

II. Die Temperaturentwicklungskurve bei medizinisch wichtigen Insekten.

Von Dr. **F. S. Bodenheimer,**
Pal. Zion. Ex. Agric. Exper. Stat., Tel-Aviv, Palästina.

Mit 9 Abbildungen im Text.

Um die Abhängigkeit eines Insektes von den physikalischen Außenfaktoren festzulegen, sind 2 Untersuchungen erforderlich: Einmal wechselt bei verschiedenen Temperaturen und Feuchtigkeitsgraden die Mortalität eines Insekts. Durch graphische Darstellung dieses Mortalitätsgrades, der für einige medizinisch wichtige Insekten bereits festgelegt ist, besitzen wir die Möglichkeit einer gewissen Prognose: Man braucht nur die Temperatur und relative Luftfeuchtigkeit für jeden Monat eines beliebigen Ortes in diese graphische Darstellung einzutragen, um ein plastisches Bild von der Lebensfähigkeit der betreffenden Insektenspezies an einem Orte zu erhalten. Eine solche Prognose stellte z. B. P. A. Buxton (1923) mit Erfolg (Fig. 1).

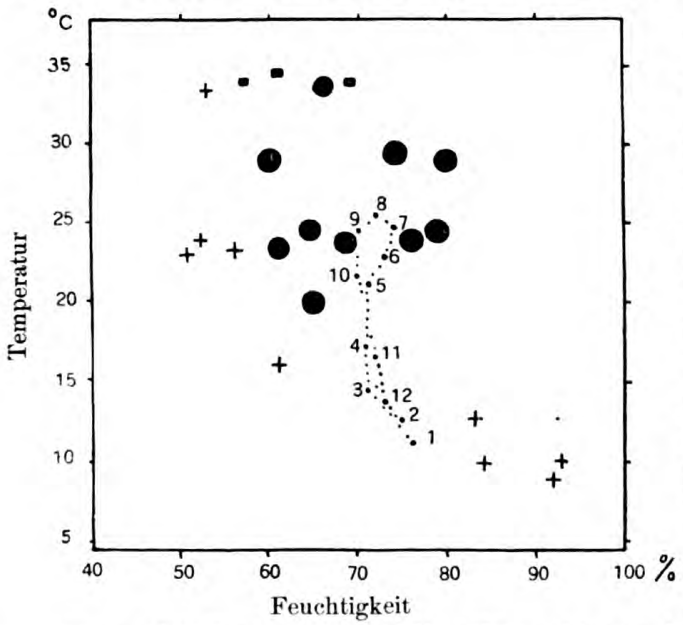


Fig. 1. Die Eintragung der Jaffaer Klimazahlen (nach Monaten (1—12) in die Bacotsche Mortalitätsumgrenzung für Xenopsylla cheopis, den Rattenfloh,
● mehr als 50 Proz. Ueberlebende,
■ über 50 Proz. Mortalität.
+ 100 Proz. Mortalität.

In Jeffa traten im Sommer 1922 sporadische Pestfälle auf, und zwár in der leichteren Form der Beulenpest. Für den Winter befürchtete man einen Uebergang in die ernstere klinische Form der Lungenpest. Nun beruht die Uebertragung dieser Seuche hauptsächlich auf dem Rattenfloh, Xenopsylla cheopis. Für diese Spezies hat A. Bacot (1914) in Indien die obigen Daten festgestellt und graphisch verarbeitet. Buxton trug in diese

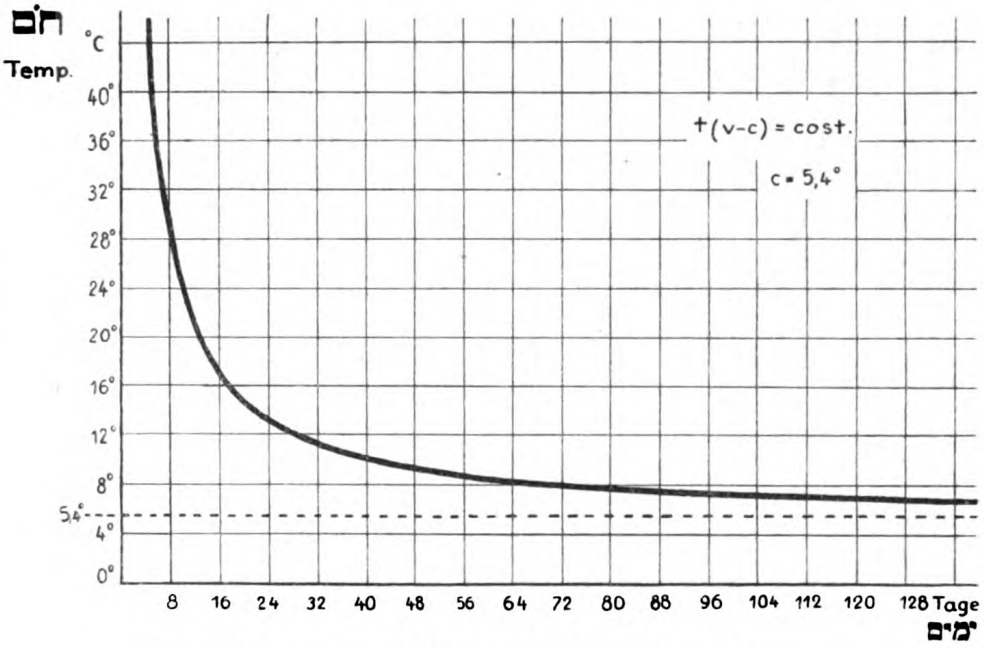


Fig. 2. Temperaturentwicklungskurve für Culex pipiens L.

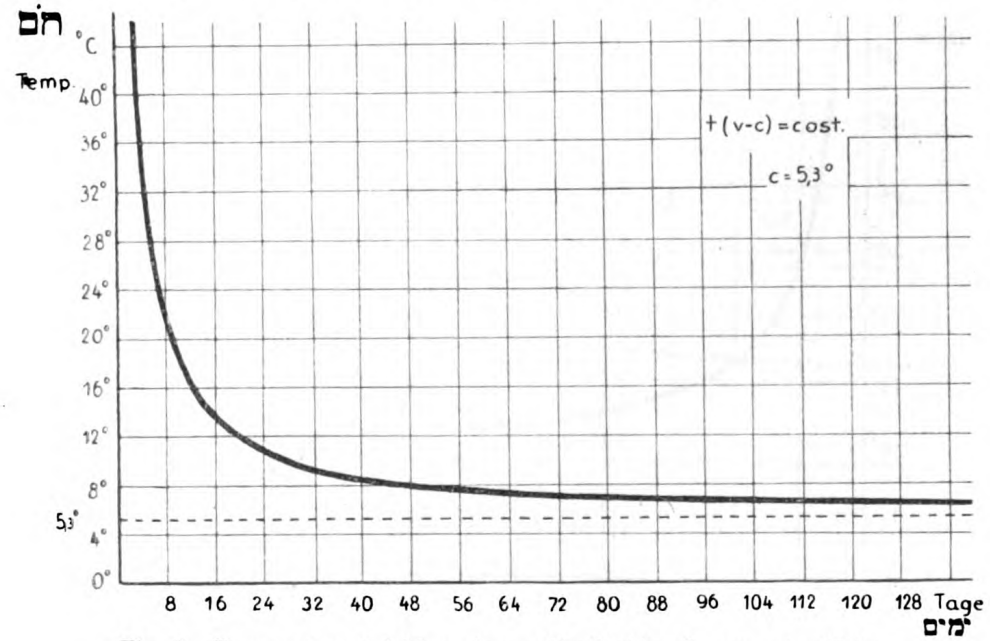


Fig. 3. Temperaturentwicklungskurve für Culicada ornata Meig.

Kurve die klimatischen Daten von Jaffa ein, und es war sofort klar, daß die Wintermonate von November bis April bereits ausgesprochen in der Mortalitätszone lagen. Tatsächlich hat die Pest im Winter völlig aufgehört. Diese Methode hat also ihre praktische Brauchbarkeit bereits erwiesen.

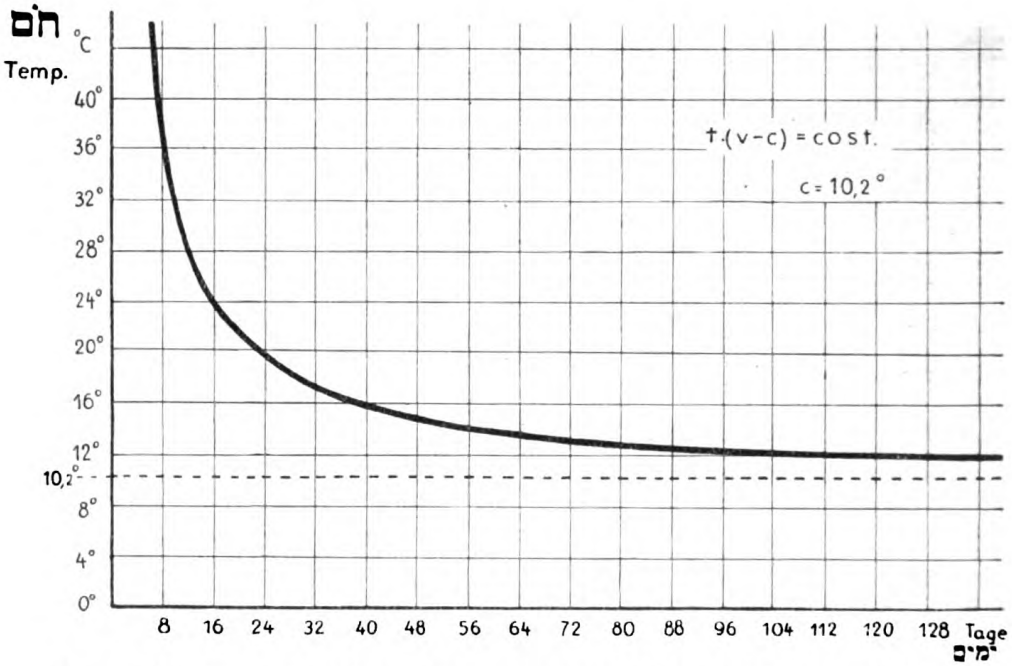


Fig. 4. Temperaturentwicklungskurve für Anopheles maculipennis Meig.

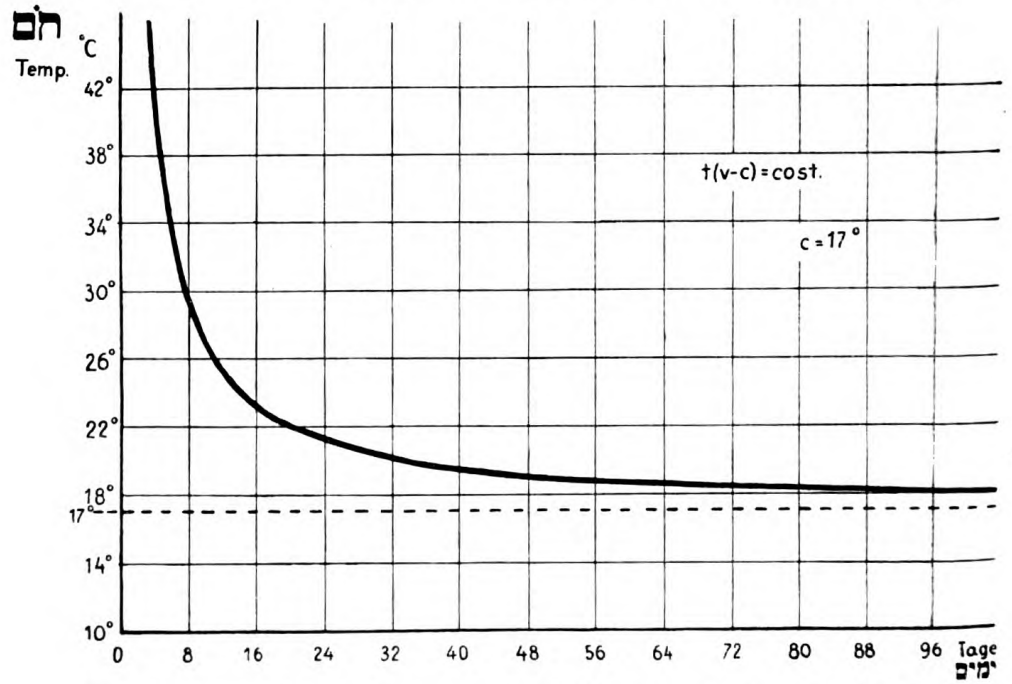


Fig. 5. Temperaturentwicklungskurve für Stegomyia fasciata Fabr.

Außer dieser Umgrenzung der Vitalitätszone interessiert uns die Abhängigkeit der Entwicklungsgeschwindigkeit der Außenwärme. Hierfür galt eine Zeitlang die Wärmesummenregel als maßgebend, nach der das Produkt von Temperatur und Entwicklungsdauer innerhalb einer jeden Spezies konstant sei. Diese Wärmesummenregel war offenbar falsch. Jetzt ist sie neuerdings von H. Blunck (1923) verbessert

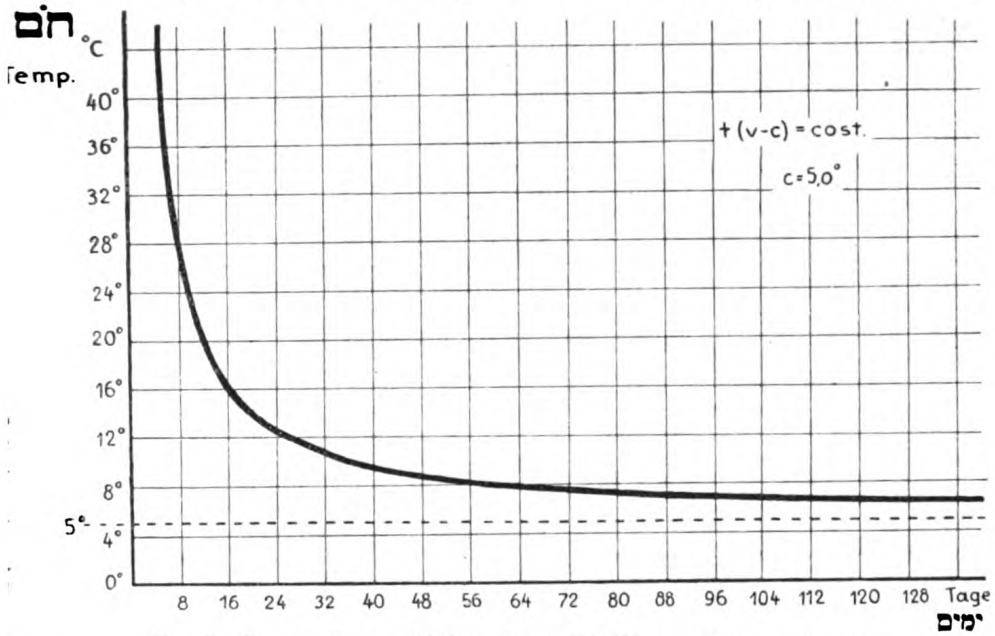


Fig. 6. Temperaturentwicklungskurve für Musca domestica L.

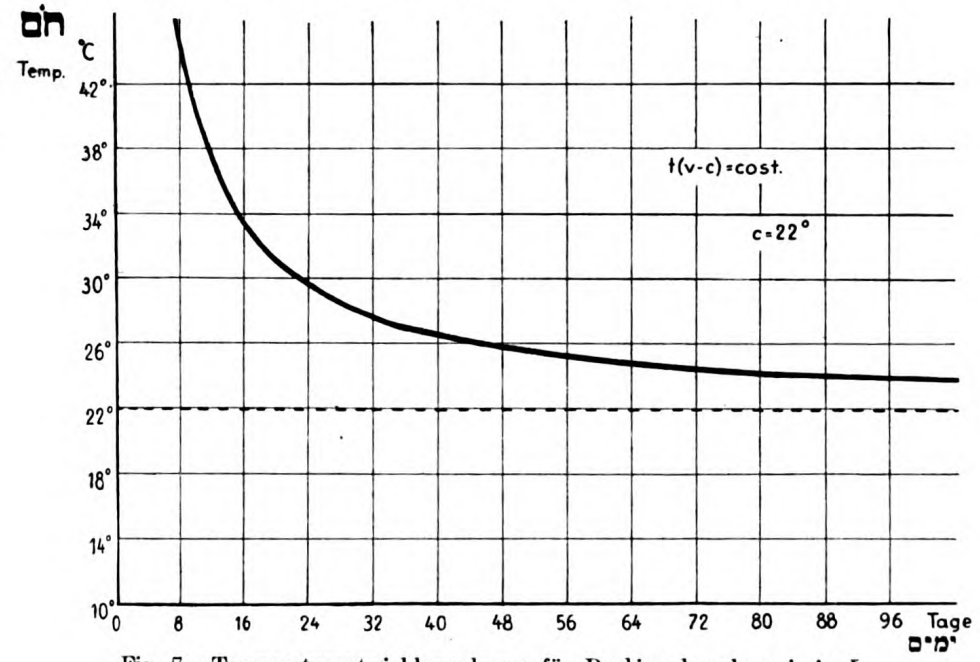


Fig. 7. Temperaturentwicklungskurve für Pediculus hominis L.

worden, und es scheint, daß die neue Blunck-Formel eine brauchbare Unterlage für solche Schätzungen abgibt.

Blunck führt in die alte Wärmesummenregel eine neue Konstante ein, den kritischen Kältepunkt, das ist der Punkt, bei dem die Lebenstätigkeiter latent zu werden beginnen. Der kritische Kältepunkt ist identisch mit der oberen Grenze der Kältezone. Die Blunck-Formel

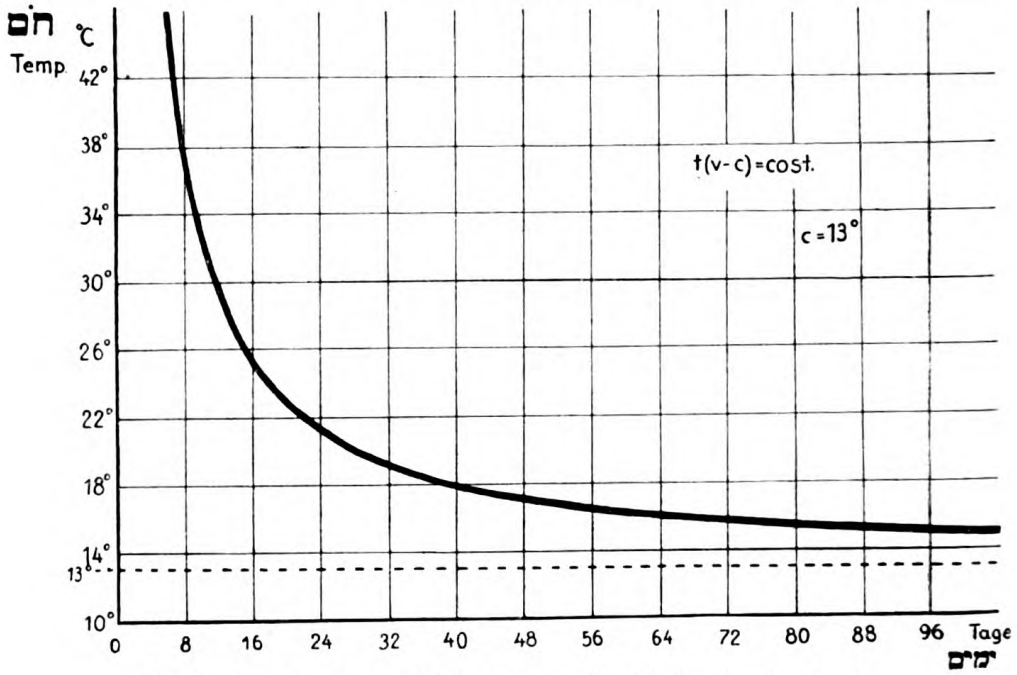


Fig. 8. Temperaturentwicklungskurve für Pulex irritans L.

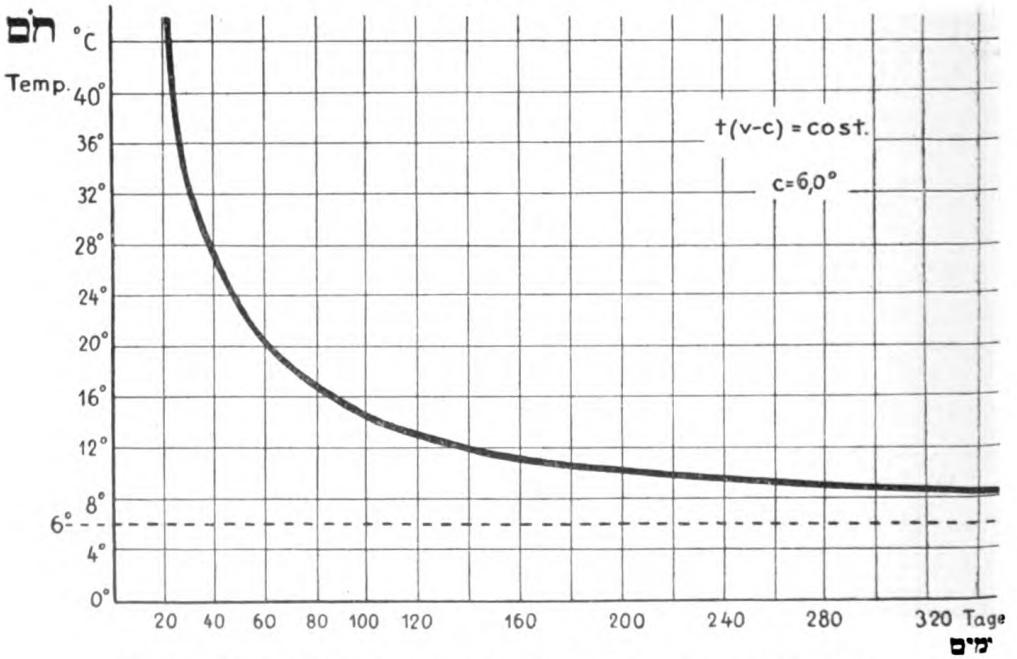


Fig. 9. Temperaturentwicklungskurve für Cimex lectularia L.

lautet: Das Produkt aus der Entwicklungszeit (t) und der Differenz zwischen der Versuchstemperatur (v) und dem kritischen Kältepunkt (c) ist konstant:

$$t(v-c) = \text{cost}$$

Diese Gleichung ist aber die Formel einer gleichseitigen Hyperbel. Eine gleichseitige Hyperbel ist eindeutig festgelegt, wenn 2 ihrer Punkte bekannt sind. Wenn man also zu 2 bekannten Temperaturen die koordinierten minimalen Entwicklungszeiten kennt, so kann man die ganze Hyperbel konstruieren. Ebenso kann man den kritischen Kältepunkt nach folgender Formel errechnen:

$$t(v-c) = \text{cost}$$
$$t_1(v_1-c) = \text{cost}$$
$$c = v - \frac{t \cdot t_1(v_1-v)}{t-t_1}$$

Für jeden beliebigen Wärmegrad kann man jetzt die zugeordnete Entwicklungsdauer ablesen.

Diese Kurve gilt nur unter optimalen Bedingungen. Durch Verschiedenheit der Ernährung, der Feuchtigkeit, der individuellen Veranlagung etc. herrscht stets eine gewisse Variation, die sich in einer Vergrößerung der Kurvenzahl ausdrückt. Das ist bei der Auswertung solcher Kurven stets zu bedenken.

Für landwirtschaftlich-entomologische Probleme hat sich eine Reihe solcher Kurven bei mir sehr bewährt. Ich habe daher aus verschiedenen mir zugänglichen Daten für verschiedene Insekten von medizinisch-entomologischem Interesse provisorisch solche Kurven aufgestellt. Diese Kurven selbst bedürfen noch der Nachprüfung, da das vorliegende Material nicht durchweg einwandfrei war. Ferner soll das ganze Problem der theoretischen wie praktischen Auswertung dieser Kurven hiermit zur Diskussion gestellt werden. Meine persönliche Ansicht geht dahin, daß solche Kurven, wenn sie durch genügend experimentelle Daten fixiert sind, stets mindestens einen heuristischen Wert besitzen, indem sie dem Entomologen eine ungefähre Richtschnur für seine Beobachtungen an die Hand geben. Für Ceratitis capitita Wied. habe ich an anderer Stelle (1924) nachgewiesen, daß die nach der Kurve errechneten Jahresentwicklungsdaten von Orten der ganzen Welt recht gut mit den Tatsachen übereinstimmen.

Von den jetzt folgenden Kurven gebe ich nachstehend die als Unterlage der Berechnung dienenden Daten an (Fig. 2—9):

1) **Culex pipiens L.** **(nach Eckstein)**
18,6° C 14 Tage
14,2° C 21 „
c = 5,4° C Th. C. (Thermal Constante, konstantes Produkt t (v—c) = 184,8

2) **Culicada ornata Meig.** **(nach Eckstein)**
13,8° C 16 Tage
9,1° C 36 „
c = 5,3° C Th. C. = 130,8

3) **Anopheles maculipennis Meig.** **(nach Martini)**
25,5° C 14,5 Tage
17,5° C 30,5 „
c = 10,2° C Th. C. = 222,7

4) **Stegomyia fasciata Fabr.** **(nach Martini)**
27° 10 Tage
c = 17° C Th. C. = 100

Bei allen Culiciden ist zu berücksichtigen, daß nicht die Luft, sondern die Wassertemperatur für ihre Entwicklung maßgebend ist.

5) **Musca domestica L.** (nach ungefähren Notizen)
25° C 9 Tage
20° C 12 „
c = 5° Th. C. = 180

6) **Pediculus hominis L.** (nach Martini)
35° C 14 Tage
c = 22° C Th. C. = 182

Interessant ist der relativ außerordentlich hoch liegende kritische Kältepunkt dieses stabilen Außenschmarotzers.

7) **Pulex irritans L.** (nach Martini)
27° C 14 Tage
c = 13° Th. C. = 196

8) **Cimex lectularia L.** (nach Martini)
30° C 35 Tage
c = 6° C Th. C. = 180

Literatur.

Bacot, A., A study of the bionomics of the common rat fleas etc. (Journ. of Hyg. (Plague Supplem.) Vol. 3. 1914. p. 447—654.). — Blunck, H., Die Entwicklung des Dytiscus marginalis L. vom Ei bis zur Imago. T. 2. (Ztschr. wiss. Zool. Bd. 121. 1923. S. 173—391.) — Bodenheimer, F. S., On predicting the development cycles of insects. I. Ceratitis capitata Wied. (Bull. Soc. Roy. Entom. d'Egypt. 1924.) — Buxton, P. A., On predicting the seasonal prevalence of an insect. (Transact. Roy. Soc. Tropic. Med. a. Hyg. Vol. 16. 1923. p. 465—468.) — Eckstein, F., Witterung und Stechmückenplage. (Ztschr. f. angew. Entomol. Bd. 6. 1920. S. 93—105.) — Martini, E., Lehrbuch der medizinischen Entomologie. Jena 1923.

Nachdruck verboten.

Die Vibriolyse ausserhalb des lebenden Körpers.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Stellvertr. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Prof. Dr. **Carl Prausnitz** und Dr. **Georg Hille.**

Gleichzeitig mit der Entdeckung der spezifischen Vibriolyse in der Meerschweinchenbauchhöhle hat sich R. Pfeiffer mit der Frage beschäftigt, ob und in welchem Grade eine ähnliche Erscheinung ohne Einwirkung des lebenden Tieres, bzw. auch außerhalb des Tierkörpers stattfinden kann. Wenn frisch getötete Meerschweinchen intraperitoneal mit einem Gemisch von Choleravibrionen und dem homologen Immunserum injiziert und im Brutschrank gehalten wurden, so traten in den ersten 20 Minuten ganz ausgesprochene bakterizide Wirkungen von fast derselben Intensität auf, wie bei dem lebenden Meerschweinchen, danach aber schritt die Bakterizidie nicht fort. Auch in vitro konnte nicht nur durch aktives Choleraimmunserum im Plattenversuch Bakterizidie nachgewiesen werden, sondern es gelang, unter geeigneten Bedingungen auch, das Pfeiffersche Phänomen zu reproduzieren. Eine 1proz. Verdünnung eines wirksamen Choleraimmunserums (Titer

0,001 ccm) in Bouillon ist im Reagenzglas auf Choleravibrionen fast unwirksam, sie hat höchstens geringe entwicklungshemmende Wirkungen; wenn man aber 1 ccm dieser Serumbouillon einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, nach 20 Minuten das Bauchhöhlenexsudat entnimmt und hängende Tropfen davon mit Choleravibrionen beimpft, so tritt rasch die typische Vibriolyse ein: „Die große Mehrzahl der Vibrionen zeigt sich in Kügelchen verwandelt, die in ihrer Form noch erhaltenen Kommabazillen waren unbeweglich, es traten also unter den oben präzisierten Versuchsbedingungen dieselben Phänomene der Vibrionenauflösung außerhalb des Organismus auf, welche ich sonst nur im Peritoneum hatte beobachten können. Allerdings bleibt die Zerstörung der Vibrionen in diesen Versuchen für gewöhnlich unvollständig, und pflegt über das Stadium der Kügelchenbildung nicht hinauszugehen, ja, es kommt, nachdem der Vorrat spezifisch bakterizider Stoffe erschöpft ist, nachträglich von neuem zu einer Vermehrung der überlebenden Cholerakeime; doch habe ich mehrmals, wenn ich die hängenden Tropfen mit einer relativ geringen Anzahl von Cholerabakterien besäte, eine vollständige Sterilisierung erreichen können." (Pfeiffer).

In scharfem Widerspruch zu den klassischen Ergebnissen Pfeiffers stehen nun Versuche, welche Di Renzo im Muchschen Institut ausgeführt hat, und die kurz zusammengefaßt folgendes ergeben: „Selbst bei frisch getöteten Tieren vermögen wir durch Einspritzungen in die Bauchhöhle, Brusthöhle oder unter die Haut nicht Keimtötung noch Keimlösung hervorzurufen, trotzdem die Gewebe auch jetzt noch den Reiz durch Bildung eines Exsudates beantworten, das mikroskopisch völlig mit dem übereinstimmt, das im lebenden Tiere gebildet wird." Er zieht hieraus den Schluß: „Die Bakteriolyse ist eine an das Leben geknüpfte Erscheinung und bedarf einer biologischen Bedingung, um in Erscheinung treten zu können."

Die grundsätzliche Bedeutung dieser Frage schien uns eine erneute Aufnahme dieser Untersuchungen auf etwas breiterer Grundlage zu rechtfertigen. Wir verwendeten eine frisch aus dem Tier ge-

Tabelle 1.

Zeit (Stunden)	Lebendes Tier	Totes Tier
1	spärl.[1]) Vibrionen, einzelne Gran.	mäßig viel Vibrionen, mäßig viel Gran.
3	keine Vibrionen, zahlreiche Gran.	ganz vereinzelte Vibrionen, mäßig viel Gran.
16	keine Vibrionen, keine Gran. Tier bleibt am Leben	keine Vibrionen, einzelne Gran.

1) Es bedeuten die jetzt und in späteren Protokollen gebrauchten Ausdrücke „ganz vereinzelt": im ganzen hängenden Tropfen bis zu 3—4 Vibrionen,

„einzelne"	im	Gesichtsfeld	2	Vibrionen
„wenig"	„	„	5—10	„
„spärlich"	„	„	10—15	„
„mäßig viel"	„	„	15—30	„
„viel"	„	„	30—40	„
„sehr viel"	„	„	ca. 100	„

züchtete Passagekultur von El Torvibrionen (Dosis let. ca. $^1/_5$ Oese) und als Ambozeptor ein vom Kaninchen gewonnenes Immunserum vom bakteriolytischen Titer 5 mg. Zunächst wurde der Tierleichenversuch wiederholt: Einem lebenden und einem frisch entbluteten Meerschweinchen von je etwa 200 g Gewicht wurde je 1 Oese Eltor + 7,5 mg Choleraimmunserum intraperitoneal infiziert. Das tote Tier wurde im Brutschrank aufgehoben. Entnahme mit Kapillare, Beetrachtung im hängenden Tropfen und im gefärbten Präparat.

Während im Kontrolltier, das mit Choleravibrionen allein injiziert wurde, progrediente Vibrionenvermehrung erfolgte, fand bei Immunserumzusatz die Auflösung und der Tod der Vibrionen in der Bauchhöhle des toten Tieres fast ebenso intensiv statt wie im lebenden.

Nunmehr wurden im Reagenzglas El Torvibrionen, inaktives Choleraimmunserum und frisches aktives Meerschweinchenserum gemischt; ausnahmslos wurde eine starke Vibriolyse festgestellt. Zur Kontrolle wurden entsprechende Gemische hergestellt, in denen das Immunserum, das Meerschweinchenserum und endlich beide Sera fortgelassen wurden: in allen Kontrollen war die Granulabildung geringfügig, während die Zahl und Beweglichkeit der Vibrionen in vielstündiger Beobachtung keine erkennbare Abnahme aufwiesen. Vom Immunserum wurde zunächst 0,01, vom Meerschweinchenserum bzw. 1, 0,3, 0,1 und 0,03 ccm verwendet. Die Röhrchen wurden mit $^1/_4$ Normalöse 24stünd. El Tor-Kultur beimpft und mit physiologischer NaCl-Lösung auf 2,5 ccm aufgefüllt.

Tabelle 2.

Zeit (Std.)	Immunser. 0,01 Komplem. 1	0,01 0,3	0,01 0,1	0,01 0,03	0,01 inakt. 1	0,01 0	0 1
1	mäß. v. V. mäß. v. Gr.	wenig V. einz. Gr.	einz. V. einz. Gr.	viel V. einz. Gr.	wenig V. einz. Gr.	viel V. einz. Gr.	mäß. v. V. mäß. v. Gr.
3	wenig V. viel Gr.	mäß. v. V. mäß. v. Gr.	mäß. v. V. mäß. v. Gr.	viel V. einz. Gr.	sehr v. V. viel Gr.	viel V. einz. Gr.	viel V. einz. Gr.
$6^1/_2$	keine V. einz. Gr.	vereinz. V. spärl. Gr.	. .	sehr v. V. mäß. v. Gr.	sehr v. V. keine Gr.	viel V. einz. Gr.	viel V. einz. Gr.
22	viel V. einz. Gr.	viel V. mäß. v. Gr.	. .	sehr v. V. einz. Gr.	sehr v. V. einz. Gr.	sehr v. V. einz. Gr.	sehr viel V. einz. Gr.

Es war also hier zwar gelungen, eine erhebliche Vibriolyse in vitro zu erhalten; die zur Lösung optimalen Mengen waren vom Immunserum 0,01 ccm (doppelte Titermenge) und vom Komplement 1,0 ccm. Während nach $6^1/_2$ Std., soweit mikroskopisch erkennbar, vollkommene Auflösung erreicht war, ergab die Nachprüfung am nächsten Morgen, daß einige Vibrionen doch, wie es Pfeiffer beschrieben hatte, der Zerstörung entgangen waren und sich danach stark hatten vermehren können. In der Annahme, daß neben unzureichender Ambozeptormenge die allmählich erfolgende Erschöpfung des Komplements hieran Schuld sein könnte, wurde in einer neuen Versuchsreihe 0,02 ccm Immunserum und 0,3 ccm Komplement eingefüllt, dann aber stündlich 0,1 ccm frisches Komplement zugefügt (der Komplementvorrat

blieb während dieser Zeit dunkel in Schnee gepackt stehen). Außerdem wurde in die ersten beiden Röhrchen nach 7 Std. noch 0,01 ccm Immunserum nachgefüllt. Andererseits wurden, um günstigste Vermehrungsbedingungen für etwa überlebende Vibrionen zu schaffen, alle Verdünnungen nicht mehr mit physiologicher NaCl-Lösung, sondern mit Bouillon ausgeführt.

Tabelle 3.

Zeit	A Immunser. 0,02 nach 7 Std. 0,01 Kompl. 0,3, dann stündl. 0,1	B 0, nach 7 Std. 0,01 0,3, dann stündl. 0,1	C 0,02 0,3	D 0,02 0	E 0 0
1	spärlich Vibr. wenig Gran.	viel Vibr. einzelne Gr.	mäßig viel V. spärlich Gr.	viel Vibr. einzelne Gr.	mäßig viel V. spärlich Gr.
3	ganz vereinz. V. mäßig viel Gr.	mäßig viel Vibr. einzelne Gr.	einzelne Vibr. viel Gr.	viel Vibr. einzelne Gr.	viel Vibr. einzelne Gr.
7	ganz vereinz. V. spärlich Gr.	mäßig viel Vibr. einzelne Gr.	wenig Vibr. spärlich Gr.	viel Vibr. einzelne Gr.	viel Vibr. einzelne Gr.
24	spärlich Vibr. wenig Gr.	viel Vibr. keine Gr.	viel Vibr. keine Gr.	viel Vibr. keine Gr.	viel Vibr. keine Gr.

In der Tat ist es also hier gelungen, durch gewissermaßen dauernden Zusatz von Komplement die Vibriolyse noch zu verstärken, und das Stadium der sekundären Vibrionenvermehrung aufzuhalten. Wäre der Komplementzusatz nicht bloß bis zur 7 Std. stündlich und noch einmal in der 10. Std. erfolgt, sondern auch die Nacht hindurch ununterbrochen fortgeführt worden, so ist es wohl möglich, daß eine vollständige Sterilisierung erzielt wäre. Aber auch so ist das Resultat sehr auffallend, wie die kulturelle Untersuchung des Röhrcheninhalts zeigt. Zu diesem Zweck wurden aus jedem Röhrchen, in den gleichen Zeiträumen wie die mikroskopische Betrachtung geschah, je 1 Normalöse entnommen und auf die Oberfläche frisch gegossener und oberflächlich getrockneter Agarplatten (pH 7,4) ausgestrichen.

Tabelle 4.

Zeit	Röhrchen A	B	C	D	E
1	ca. 100	tausende	ca. 100	tausende	tausende
2	„ 100	„	„ 100	„	„
3	2 (60)	∞	„ 100>)	∞	∞
5	2 (150)	∞	„ 100>>)	∞	∞
7	0 (300)	∞	„ 1000	∞	∞
9	1 (80)	∞	„ 1000	∞	∞
24	∞	∞	∞	∞	∞

Die Ergebnisse der nach 24 Std. und der nach 60 Std. ausgeführten Zählungen der Agarplatten stimmten in den meisten Fällen überein. Nur im Röhrchen A fand ein erhebliches Nachwachsen von Kolonien im

Laufe des 2. und 3. Tages statt; hier sind die Resultate der 2. Zählung in Klammern beigefügt.

Auch im Röhrchen C ist eine starke Schädigung der Vibrionen ersichtlich; sie zeigt sich nicht nur in der absoluten Keimzahl, sondern auch im Auftreten abnormer Kolonienformen in den nach 3 Std. (×) und nach 5 Std. (××) angelegten Platten: auffallend kleine, fast punktförmige und „Flatterformen"-ähnliche Kolonien, aus denen sich übrigens keine Bakteriophagen isolieren ließen.

Das Ergebnis dieses Versuches ist also, daß in vitro unter dem Einfluß von Choleraimmunserum und mehrfach wiederholtem Zusatz von Komplement eine sehr weitgehende Auflösung und Zerstörung der Vibrionen erfolgt, die fast bis an die Grenze der völligen Sterilisierung geht. Nur wenige Individuen entgehen dem Zerstörungsvorgang, vielleicht infolge einer abnorm hohen Widerstandskraft, und aus diesen können in der Folge wieder große Zahlen von Vibrionen entstehen.

Wir haben nunmehr versucht, die Abtötungsbedingungen noch günstiger zu gestalten, indem wir den Röhrchen außer dem Immunserum und dem Komplement noch etwas frisches steriles Meerschweinchenexsudat hinzufügten. Das Exsudat wurde gewonnen durch intraperitoneale Injektion eines Meerschweinchens mit 10 ccm steriler Bouillon; es wurde nach 3 Std. entnommen, mit gleichem Volum 1 Proz. Natroncitratlösung vermischt und bis zum Versuchsbeginn 15 Std. im Eis aufbewahrt. Die Verdünnungen wurden wieder mit Bouillon hergestellt und mit Bouillon auf 2,5 ccm aufgefüllt.

Tabelle 5.

Zeit	A Immunser. 0,02 Kompl. 0,3 Exsud. 0,1	B 0,02 0,3 + 0,1 + . . . 0,1	C 0,02 0,3 0,05	D 0,02 0,3 + 0,1 + . . . 0,05
1	spärlich Vibr. mäßig viel Gr.	spärlich Vibr. mäßig viel Gr.	spärlich Vibr. wenig Gr.	spärlich Vibr. wenig Gr.
3	wenig Vibr. mäßig viel Gr.	ganz vereinzelt V. mäßig viel Gr.	wenig Vibr. mäßig viel Gr.	wenig Vibr. wenig Gr.
8	wenig Vibr. viel Gr.	ganz vereinzelt V. viel Gr.	einzelne Vibr. mäßig viel Gr.	keine Vibr. wenig Gr.
24	mäßig viel Vibr. wenig Gr.	ganz vereinzelt V. viel Gr.	mäßig viel Vibr. wenig Gr.	ganz vereinzelt V. viel Gr.

Zeit	E 0,02 0,3 + 0,1 + . . . 0	F 0 0,3 + 0,1 + . . . 0,1	G 0,02 0 0,1
1	spärlich Vibr spärlich Gr.	mäßig viel Vibr. einzelne Gr.	spärlich Vibr. einzelne Gr.
3	spärlich Vibr. spärlich Gr.	mäßig viel Vibr. einzelne Gr.	mäßig viel Vibr. einzelne Gr.
8	einzelne Vibr. mäßig viel Gr.	sehr viel Vibr. wenig Gr.	sehr viel Vibr. wenig Gr.
24	einzelne Vibr. mäßig viel Gr.	sehr viel Vibr. viel Gr.	sehr viel Vibr. wenig Gr.

Noch bessere Resultate wurden erhalten, wenn außer dem einmaligen Exsudatzusatz das Komplement 10 Std. lang stündlich den Proben zugegeben wurde (Tabelle 5).

Wie im vorigen Versuch wurde von jedem Röhrchen zu verschiedenen Zeiten je 1 Normalöse entnommen und auf Agarplatten ausgestrichen. Die Zählung erfolgte nach 1- und 3tägiger Bebrütung bei 37°, ergab aber in diesem Versuch keine nennenswerten Abweichungen zwischen den beiden Werten (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Zeit	Röhrchen A	B	C	D	E	F	G
1	5	5	10	17	6	∞	∞
3	0	0	0	0	0	∞	∞
8	70	0	40	11	0	∞	∞
24	∞	100	∞	150	150	∞	∞

Bei dieser Versuchsanordnung ist es in der Tat gelungen, vorübergehend eine vollkommene Auflösung und kulturell nachweisbare Sterilisierung zu erzielen. Es hat sich hierbei die interessante Tatsache ergeben; daß nicht die größten Exsudatmengen das beste Resultat ergeben, vielleicht liegen hier ähnliche Hemmungsvorgänge zugrunde, wie sie beim Neisser-Wechsbergschen Phänomen eine Rolle spielen.

Fassen wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen zusammen, so hat sich ergeben, daß in voller Bestätigung der ursprünglichen Angaben R. Pfeiffers auch in der Bauchhöhle des toten Meerschweinchens unter dem Einfluß von Choleraimmunserum noch eine typische Vibriolyse stattfinden kann. Sie läßt sich in ähnlicher Weise auch außerhalb des Tierkörpers im Reagenzglase durch gleichzeitige Einwirkung zweckmäßig abgestufter Mengen von Immunserum und Komplement erzielen, am besten, wenn das Komplement von Zeit zu Zeit erneuert wird. Eine noch etwas stärkere bakteriolytische Wirkung wird erzielt, wenn den Röhrchen noch eine nicht zu große Menge sterilen Exsudates hinzugefügt wird.

Literatur.

Pfeiffer, R., u. Issaeff, Ztschr. f. Hyg. Bd. 17. 1894. S. 397. — Pfeiffer, R., ebenda. Bd. 18. 1899. S. 9; Bd. 19. 1895. S. 80 ff. — di Renzo, Ztschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 38. 1923/24. S. 519.

Nachdruck verboten.

Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel und Agardurchdringung.

Von Dr. **Vojin Dimitrijevic-Speth,**
Chef des staatl. Bakteriologischen Instituts in Veliki Bečkerek, Banat (Jugoslawien).

Eine ca. 10proz. Gelatine, die mit 0,1 Proz. Agar versetzt und mit Kristallviolettagar unter Kühlung überschichtet worden ist, nenne ich im folgenden BM (= Belgrader Medium).

Im brutschrankflüssigen BM lassen sich Stichkulturen gewinnen, die auch durch kräftiges Schütteln nicht zerteilt werden. Das Wesentliche ist der geringe Agargehalt, denn unter gleichen Bedingungen bilden sich in reiner Gelatine keine Stichkulturen, dagegen wohl in Bouillon, der 0,05 Proz. Agar zugesetzt sind, jedoch fällt ohne die Gelatine der Agar gern aus, die Ueberschichtung ist schwierig und die Kolonien sind uncharakteristisch.

An sich sind die Bedingungen im BM anaërobe, jedoch wachsen infolge der günstigen dickflüssigen Konsistenz auch die Aërobier, mit Ausnahme der strengsten mit.

Das BM erlaubt eine Einteilung der Bakterien in diffundierende und nichtdiffundierende. Die Diffusion hat mit Gelatineverflüssigung nichts zu tun, die Gelatine ist ja von vornherein flüssig, beruht vielmehr auf der Fähigkeit, den Agar zu durchdringen, die bestimmte Arten konstant zeigen.

Die Kolonieformen der nichtdiffundierenden sind meist ganz andere als auf Gelatine, nur beim Milzbrand sehr ähnlich. Das Wachstum ist schneller als auf Bouillon, oft ist nach wenigen (3—5) Std. schon ein kräftiger, manchmal charakteristischer Stich gewaschen (z. B. Milzbrand).

Zum Anzüchten (statt Bouillon) ist das BM ganz besonders geeignet. Die Bakterien verdrängen sich gegenseitig bei Abwesenheit von stark diffundierenden Arten überhaupt nicht. Nur bei Stuhlkulturen und Gemischen mit reichlich Anaërobiern findet, wie in Bouillon, eine Ueberwucherung statt. Verunreinigungen aus der Luft, wie sie bei langdauerndem Bebrüten und häufigem Ueberimpfen bei Bouillon vorkommen, werden beim BM durch den Kristallviolettpfropf völlig verhindert; deshalb ist es für Aufbewahrung von Reinkulturen sehr geeignet. Die Entwicklung der verschiedenartigsten Mikroorganismen nebeneinander zeigt sich schon im Aussehen des Stichs, aber noch schöner in den mikroskopischen Präparaten, die noch obendrein eine auffallende Aehnlichkeit mit den aus dem Material selbst hergestellten aufweisen.

Streptokokken wachsen mit Sicherheit, selbst wenn sie im Material mikroskopisch oder auf Ascitesagarplatten nicht nachweisbar

sind. Außerdem haben sie im BM eine Lebensdauer von 6 Tagen bis zu 3 Wochen, besonders wenn das BM täglich einmal etwas ge-

Keine Diffusion. Nur im Stich wachsend bei klarbleibendem Nährmittel	Diffusion gering, erst nach Stichwachstum allmähl. beginnend. 0,2% Agargelat. nicht mehr durchdringend	Sofortige Diffusion, Stich noch bemerkbar. 0,4—0,7 Proz. Agar bringt die Diffusion zum Stehen	Völlige Diffusion ohne jedes Stichwachstum. Der Agar wird allmählich ausgefällt und sedimentiert	Nur sehr kümmerliches Wachstum
Streptokokken: Große, anfangs rundliche, später ausgefranste (quastenartige) Körner, die erst nach 1—3 Tagen ihre volle Größe erreichen Staphylokokken: Kleine, feinste Körnchen rundlich, nach 24 Std. sich nicht mehr vergrößernd Micrococcus tetragenus: Dgl. Milzbrandbazillen: Horizontale feine Aestchen, oft bis an die Wand des Reagenzglases Bac. pyocyaneus: Wie Staphylokokken Bac. pneumoniae Friedländer: Milchigtrüber Stich ohne Körnelung, oft mit kolbigen Ausläufern und bauchiger Anschwellung des Stiches unterhalb des Agarpfropfes Bac. lactis aërogenes: Wie Bac. pneumon. Friedl. Bac. diphtheriae: Wie Staphylokokken, jedoch noch feinere Körnchen	Bac. enterit. Gärtner Bac. suisepticus Bac. avisepticus Bac. bifidus communis Trichophyton violaceum Trichophyton granulos. Charakteristisch für B. enteritidis Gärtner ist Aussprengung von massenhaften Körnchen vom Stich aus in den klarbleibenden Gelat.-Agar hinein	Bac. dysenteriae Bac. coli Escherich Bac. typhi „ paratyphi (alle Stämme) Proteus	Bac. botulinus Bac. oedemat. maligni Rauschbrandbazillen Bac. putrific. Bienstock Bac. putrific. verrucosus Bac. tetani Nikolaier	Die strengsten Aërobier. Z. B. Choleravibrionen, Gonokokken, Meningokokken, Sarcinen etc

schüttelt wird. Dadurch entstehen manchmal so große Einzelkolonien, daß eine Kolonie fast den Durchmesser des Reagenzglases erreicht, während sonst die Kolonien auf schwach alkalischem Nährmedium mit 1—2 Proz. Pepton nur pfefferkongreß werden. Wenn die Kolonien sich nicht mehr vergrößern, ist es Zeit, sie zu überimpfen.

Das BM läßt sich leicht besonderen Fällen anpassen. Für aërobe Bakterien wird die noch heiße Flüssigkeit nach dem Sterilisieren etwas geschüttelt und dann erst gekühlt zur Aufsetzung des Agarpfropfs.

Für Anaëroben können Leberstückchen mitsterilisiert werden, wovon ich allerdings keinen Vorteil sah, außer etwas schnellerem Angehen der Kultur.

Zur Prüfung der Säurebildung gibt man dem Röhrchen vor der endgültigen Sterilisierung Zucker und Lackmuslösung zu. Säurebildung

zeigt sich sehr rasch mit gleichzeitiger Kontrollmöglichkeit, indem zunächst nur der Stich sich rötet.

Gasbildner sind ebenfalls sehr rasch zu erkennen, jedoch bietet das BM nur für kurze Kultivierung den Vorteil, ohne Gasröhrchen auszukommen, denn später hebt sich der Agarpfropf oft bis zur Watte und die Nährflüssigkeit vermischt sich mit dem nunmehr unkenntlichen Stich.

Zusammenfassung.

1) Das BM läßt die Mikroorganismen in diffundierende und nichtdiffundierende einteilen. — 2) BM ist elektiv für Streptokokken, die in ihm lange lebend bleiben. — 3) BM eignet sich zur Anzüchtung vieler Aërobier und gleichzeitig der Anaërobier ohne besonderes Anaërobier-Verfahren, schließt Verunreinigungen aus und eignet sich deshalb auch zur Aufbewahrung von Reinkulturen.

Druckfehlerberichtigung.

In der Arbeit Anselmi, Untersuchungen über die Variabilität des Bacterium coli. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. S. 518, Zeile 4 von unten lies: statt Pyocystitis: Pyelocystitis; S. 519 Zeile 5 von oben statt Wirtsorgan: Wirtsorganismus.

Inhalt.

Bodenheimer, F. S., Ueber die Voraussage der Generationenzahl von Insekten. II. Die Temperaturentwicklungskurve bei medizinisch wichtigen Insekten. Mit 9 Abbildungen im Text, S. 474.

Dimitrijevic-Speth, Vojin, Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel und Agardurchdringung, S. 486.

Gildemeister, E., u. **Herzberg, Kurt,** Zur Theorie der Bakteriophagen (d'Herelle-Lysine). 6. Mitteilung über das d'Herellesche Phänomen. Mit 10 Abbildungen im Text, S. 402.

Gutfeld, Fritz v., u. **Weigert, Edith,** Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung. II. Mitteilung, S. 436.

Gutstein, M., Das Ektoplasma der Bakterien. I. Mitteilung: Ueber eine allgemeine Methode zur Darstellung des Ektoplasmas der grampositiven Bakterien. Mit 1 Tafel, S. 393.

Hammerschmidt, Johann, Ueber Gruppenbildung bei den Diphtheriebazillen, S. 443.

Hoder, Friedrich, Vergleichende Untersuchungen von Coli-Dysenterie- und Paratyphusbakteriophagen, S. 424.

Lisch, Hans, Ueber die sogenannten Pyocyaneus-Bakteriophagen. Mit 1 Tafel, S. 421.

Lorentz, Friedr. H., Der Säurezusatz zu Gonokokkennährböden, S. 467.

Luger, A., u. **Lauda, E.,** „Herpetischer Zoster"? Kerneinschluß oder Kerndegeneration. [Bemerkungen zu der gleichnamigen Arbeit von Privatdoz. Dr. B. Lipschütz, Wien (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 361).], S. 469.

Pesch, Karl L., u. **Gottschalk, Hanna,** Ueber den Sauerstoffbedarf der Corynebakterien, S. 459.

Prausnitz, Carl, u. **Hille, Georg,** Die Vibriolyse außerhalb des lebenden Körpers, S. 480.

Roskin, G., Ueber das Vorkommen von aktinomycesartigen Organismen in einem Hühnersarkom. Mit 2 Abbildungen im Text, S. 472.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5268

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 93. Heft 7/8.

Ausgegeben am 30. Dezember 1924.

Nachdruck verboten.

Die Bindungsverhältnisse zwischen Bakteriophagen und Bakterien.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald (Stellv. Direktor: Prof. Dr. Carl Prausnitz).]

Von Dr. **Gertrud Meißner.**

1. Assistentin am Institut.

Wie Seiffert[1]) und Gildemeister und Herzberg[2]) nachgewiesen haben, gelingt es verhältnismäßig leicht, die bakteriophagen Lysine an elektronegative Kolloide zu adsorbieren und aus diesen durch Waschung mit elektropositiven Flüssigkeiten wieder frei zu machen. Diesem Vorgang scheint also eine physikalisch zu erklärende Adsorption zugrunde zu liegen. Eine gewisse Adsorption geringen Grades kann auch durch neutrale und sogar durch positive Kolloide erzielt werden. Doch handelt es sich hier anscheinend nur um schwache und inkonstante Beeinflussungen, die also vorwiegend bei schwachen und labilen Bakteriophagen in Erscheinung treten werden.

Ganz anders liegen die Verhältnisse, wenn man die Bakteriophagen mit den ebenfalls positiv geladenen Bakterien zusammenbringt. Hier findet in der Regel keine, oder nach meinen Versuchen nur ausnahmsweise, eine geringe Abschwächung des Bakteriophagen statt. Nur eine bedeutsame Ausnahme findet sich: die Lysine werden regelmäßig mit großer Avidität durch die homologen sensiblen Bakterien aus der Flüssigkeit herausgerissen [Jötten[3]), Jaumain und Meuleman[4]), Bail[5])]. Dies grundsätzlich verschiedene Verhalten macht es überaus wahrscheinlich, daß die Beziehungen zwischen den Bakteriophagen und ihren homologen Bakterien nicht auf einer physikalischen Adsorption beruhen, sondern auf einer chemischen Bindung. Es ist im Hinblick auf die wichtigen Versuche Bails[5]) wahrscheinlich, daß die hier obwaltenden chemischen Beziehungen viel weiter gehen als die Gattungs- oder Artspezifität der Serumreaktionen, daß hier vielmehr eine außerordentlich strenge Rassen- oder Stammesspezifität vorliegt.

Umso eigenartiger ist die von mir gefundene Tatsache, daß ein und derselbe Stamm im sensiblen Zustand den Bakteriophagen bindet, im resistenten Zustand ihn in keiner Weise beeinflußt, ebensowenig wie auch der Bakteriophage ihn zu beeinflussen vermag.

Bail[6]) hat für derartige Unterschiede die Erklärung gegeben, daß die sensiblen Bakterien mit spezifisch bindenden Rezeptoren für die Ly-

1) Seiffert, W., Med. Klin. 1923. S. 833.
2) Gildemeister, E., u. Herzberg, K., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1923. S. 112. 228.
3) Jötten, Klin. Woch. 1922. S. 2181.
4) Jaumain u. Meuleman, Compt. rend. Soc. Biol. 1922. Bd. 87. p. 362.
5) Bail, O. u. Okuda, S., Arch. f. Hyg. Bd. 92. S. 251.
6) a. a. O.

sine ausgestattet wären, und daß bei dem Vorgang des Resistentwerdens die Bakterien diese Rezeptoren verlören; dadurch würde 1) die Bildung des Lysins und 2) mittelbar ihre auflösende Wirkung auf die Bakterien aufgehoben. Inwieweit diese geistvolle Hypothese in Zukunft zur Erklärung aller Erscheinungen der Lysoresistenz ausreichen wird, muß mit Rücksicht auf die anderweitigen tiefgehenden Abweichungen der resistenten Bakterien (Morphologie, Serumresistenz, Virulenz) zunächst fraglich bleiben.

Es erschien jedoch von Interesse, die Bindungsverhältnisse zwischen den Bakterien und ihren Lysinen einer eingehenderen quantitativen Untersuchung zu unterziehen, was ich auf Veranlassung von Herrn Professor Prausnitz ausgeführt habe.

Eigene Untersuchungen.

1) Absättigung der Lysine durch Digestion mit Bakterien.

Verwendet wurde der Flexner-Bakteriophage „681", der mit dem homologen Flexner-Stamm auf 1proz. Agar (pH 7,4—7,5) kleine und mittlere Löcher (1—2 mm. Durchm.) bildete, der Shiga-Bakteriophage „Lauda g", den wir der Liebenswürdigkeit von Herrn Prof. Bail verdanken, und der von mir beschriebene[1]) Cholerabakteriophage „G 3". Die Absättigung muß bei niedriger Temperatur (zwischen 0 und 8°) erfolgen, um den Eintritt der Lyse zu verhindern.

Je 3—5 ccm Flexner-Lysin wurden mit 1 Oese Flexner l. s.[2]), Flexner l. r. Bazillen bzw. El Torvibrionen versetzt, 24 Std. kalt digeriert und 20 Min. bei 4000 Touren zentrifugiert; von den überstehenden Flüssigkeiten bzw. Verdünnungen derselben in physiol. NaCl-Lösung wurden je 0,1 ccm mit 2 Tropfen frisch hergestellter Bouillonaufschwemmung von Flexner l. s. gemischt und auf Agarplatten ausgespatelt. Die überstehenden Flüssigkeiten wurden alsdann erneut in gleicher Weise digeriert usw., bis sie unwirksam geworden waren.

Tabelle I.

	3 ccm Flexner-Bakterioph. 681 bei 8° digeriert mit 1 Oese Kultur			unbehandelter Bakteriophage
	Flexner l. s.	Flexner l. r.	El Tor	
1. Absättigung	ca. 4700	∞	∞	∞
2. „	0	∞	∞	∞

Das Flexner-Lysin kann also durch den homologen sensiblen Stamm in 2 Absorptionen vollkommen erschöpft werden, während es durch den homologen resistenten Stamm ebensowenig beeinflußt wird, wie durch ein ganz fremdes Bakterium, den Choleravibrio. Ein Parallelversuch, mit dem 1:100 verdünnten Lysin bei 0° angestellt, lieferte entsprechende Ergebnisse, nur führte hier schon die 1. Absättigung mit Flexner l. s. zur Unwirksamkeit.

Die Versuche stimmen also mit den Ergebnissen von Jötten[3]) und Jaumain u. Meuleman[4]) überein. Es hat sich aber bei genauer Aus-

1) Dies. Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 91. 1924. S. 149.
2) „Flexner l. s." bzw. „Flexner l. r." bedeuten hier und später die lysosensible bzw. lysoresistente Modifikation des verwendeten Flexner-Stammes.
3) a. a. O.
4) a. a. O.

zählung später regelmäßig ergeben, daß das Flexner-Lysin nach Digestion mit dem homologen resistenten Bazillus stärker wirksam geworden war, als das unter sonst gleichen Bedingungen gehaltene, aber nicht mit Bakterien versetzte Lysin (vergleiche Tabelle II).

Tabelle II.

5 ccm Flexner-Bakterioph. 681 einmal bei 0° digeriert mit 1 Oese			unbehandelter Bakteriophage
Flexner l. s.	Flexner l. r.	El Tor-Bazillen	
8	2850	700	185

Die Unterschiede traten noch deutlicher hervor, wenn die Versuche mit Bouillonverdünnungen der Bakteriophagen angesetzt wurden. Eine Erklärung für diese eigenartige Erscheinung könnte darin gesucht werden, daß in der Bouillon Hemmungsstoffe für das Lysin vorhanden sind, welche durch die Digestion mit dem lysoresistenten Flexner entfernt werden.

Weitere Kontrollversuche haben gezeigt, daß eine Absättigung dieses Bakteriophagen ebensowenig durch Typhusbazillen, Staphylokokken und B. megatherium wie durch El Torvibrionen erfolgt. Es liegt also unzweifelhaft eine strenge Artspezifität diesen Verhältnissen zugrunde, ja noch mehr, man kann aus dem verschiedenen Verhalten des Lysins gegenüber den sensiblen und resistenten homologen Bakterien auf eine Spezifität des Stammes bezw. seiner Modifikation schließen.

Es ist begreiflich, daß, je schwächer an sich der Bakteriophage ist, desto weniger scharf die Unterschiede hervorzutreten brauchen. So wurde bei dem von mir beschriebenen Cholera-Bakteriophagen „G 3", der viel schwächer und sehr thermolabil ist, auch eine deutliche unspezifische Absättigung durch lysosensible Flexner-Bazillen beobachtet. Aber auch bei diesem Bakteriophagen war der Unterschied in der Absättigung durch seinen spezifischen lysosensiblen und spezifischen lysoresistenten Vibrio sehr auffallend.

Bei dem Shiga-Bakteriophagen „Lauda g" gelang die Gewinnung eines lysoresistenten Shiga-Bazillus nur mit großer Mühe. Da dieser Bakteriophage wesentlich stärker war als die beiden bisher beschriebenen, so gelang es begreiflicherweise nicht, in einer Absättigungsreihe das Lysin unter $^1/_{10}$ des Ursprungswertes herunterzubringen. Aber auch hier war das Verhalten zum lysoresistenten Shiga-Bazillus das gleiche wie bei den anderen beiden Bakteriophagen.

In Bestätigung der Versuche von Jaumain u. Meuleman konnte festgestellt werden, daß die lebenden Bakterien durch die 1 Std. auf 56° erhitzten vertreten werden können. Auch hier zeigte sich der gleichstrenge Unterschied zwischen den sensiblen und resistenten Bakterien.

Auch bei den Versuchen mit abgetöteten Bakterien wurde die eigenartige Tatsache bestätigt, daß der Bakteriophage nach Digestion mit den sensiblen homologen Bakterien seine Wirksamkeit verliert, nach Digestion mit den resistenten homologen Bakterien gegenüber der unter gleichen Bedingungen gehaltenen bakterienfreien Kontrolle an Wirksamkeit erheblich gewinnt (Tabelle III).

Tabelle III.

5 ccm Flexner-Bakteriophage 681 bei 0° digeriert mit 1 Oese		unbehandelter Bakteriophage
Flexner l. s. 56°	Flexner l. r. 56° Bazillen	
62	ca. 5000	ca. 1000

Man mußte also annehmen, daß die bindenden Anteile des Bakterienleibes, zum Teil wenigstens, thermostabil sind. Ueberraschenderweise zeigte sich aber, daß auch bei viel stärkerer Erhitzung die Verhältnisse ähnlich blieben (Tabelle IV).

Tabelle IV.

4 ccm Flexner-Bakteriophage 681 bei 0° diger. mit 1 Oese Flexner-Kultur, die 1 Std. erhitzt war auf					unbehandelter Bakteriophage
60°	70°	80°	90°	100°	
36	61	10	17	250	∞

Erst bei einer Erhitzung von 1 Std. auf 120° im Autoklaven wurde die bindende Wirkung der Bakterien ganz aufgehoben (Tabelle V).

Tabelle V.

4 ccm Flexner-Bakteriophage 681 bei 0° digeriert mit 1 Oese Flexner-Kultur, die 1 Std. auf 120° erhitzt war	unbehandelter Bakteriophage
270	250

Unwillkürlich drängt sich bei solchen Ergebnissen ein Vergleich mit der Wirkung der thermostabilen Rezeptoren der Bakterien auf die dazugehörigen Agglutinine und andere Antikörper auf. Man könnte auch hierin eine Stütze der schon oben erwähnten Rezeptorentheorie von Bail sehen.

2) Absättigung der Bakterien durch wiederholten Lysinzusatz.

Während es schon schwer war, durch wiederholten Bakterienzusatz die lytische Kraft des Bakteriophagen ganz aufzuheben, war es umgekehrt noch viel schwerer, durch wiederholten Zusatz von frischem Bakteriophagen zu den Bakterien deren bindende Kraft zu erschöpfen.

Je 1 Oese Flexner l. s. und Flexner l. r. wurden 9mal mit je 5 ccm Flexner-Bakteriophagen bei 0° 1—2 Tage digeriert und dann jeweils durch Zentrifugieren getrennt: die überstehende Flüssigkeit wurde jeweils auf ihren Lysingehalt untersucht: noch nach 9maligem Digerieren erwiesen sich jedoch die lysosensiblen Bakterien fähig, das jedesmal neu zugesetzte Lysin weitgehend abzuschwächen (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Zahl der Absättigungen	Je 5 ccm frischen Flexner-Bakterioph. 681 nach Digestion bei 0° mit stets denselben Bakterien		derselbe Bakteriophage unbehandelt
	Flexner l. s.	Flexner l. r.	
1	0	1100	ca. 1000
2	230	800	800
3	60	ca. 3000	ca. 3000
4	0	„ 3500	„ 3500
5	0	„ 2500	„ 2500
6	150	∞	„ 10000
7	150	„ 2500	
8	16	„ 1200	„ 1000
9	20	∞	„ 3500

Ebenso verhielten sich die bei 60° und 100° erhitzten Bakterien. Dort war es sogar bei 11maliger Beladung noch nicht möglich, die bindende Wirkung der Bakterien zu erschöpfen (Tabelle VII).

Tabelle VII.

Zahl der Absättigungen	Je 5 ccm frischen Flexner-Bakterioph. 681 nach Digestion bei 0° mit stets denselben Bakterien		unbehandelter Bakteriophage
	Flexner l. s. 60°	Flexner l. s. 100°	
1	.	.	.
2	36	250	∞
3	3	49	∞
4	2	116	∞
5	2	163	250
6	16	250	∞
7	8	210	∞
8	7	196	∞
9	18	234	∞
10	80	120	260
11	190	195	∞

Auch bedeutend geringere Bakterienmengen hatten noch die Fähigkeit, den Bakteriophagen ebenso weitgehend abzuschwächen (Tabelle VIII).

Tabelle VIII.

Je 5 ccm Flexner-Bakteriophage 681 nach 1maliger Digestion bei 0° mit				unbehandelter Bakteriophage
1 Oese	0,5 Oese	0,2 Oese	0,1 Oese Flexner l. s.	
7	9	6	59	∞

Erst wenn man die Menge lysosensibler Kultur auf 0,1 Oese herabsetzt, ist bei 1maliger Digestion ein deutlicher Unterschied zu sehen; bei Verwendung dieser geringen Bakterienmenge gelang es endlich nachzuweisen, daß die bindende Kraft der abgetöteten Bakterien für das Lysin doch überhaupt begrenzt ist: nach 7maliger Behandlung von 0,1 Oese Kultur mit jeweils frisch zugesetztem Lysin war die bindende Kraft der Bakterien erschöpft (Tabelle IX).

Tabelle IX.

Zahl der Absättigungen	Je 5 ccm frischen Flexner-Bakterioph. 681 bei 0° digeriert mit stets denselben Bakterien		unbehandelter Bakteriophage
	0,5 Oese	0,1 Oese Flexner l. s.	
1	0	8	60
2	0	9	77
3	0	2	39
4	9	51	400
5	8	188	350
6	9	157	273
7	20	300	240

3) Absättigungsversuche mit Bakterienextrakten.

Nachdem die vorhergehenden Versuche gezeigt hatten, daß den lysosensiblen Bakterien ein spezifisches Bindungsvermögen für das homologe Lysin zukommt und daß dieses Bindungsvermögen auch das Kochen überdauert, lag es nahe, zu versuchen, durch möglichst vorsichtige Zerstörung des Bakterienleibes die hier wirksame Substanz freizumachen. Zu diesem Zwecke wurden zunächst Schüttelextrakte hergestellt. Je eine 1tägige Schrägagarkultur von Flexner l. s. und Flexner l. r. wurde mit 5 ccm Aq. dest. abgeschwemmt, die Aufschwemmungen 24 Std. bei 37° gehalten, 1 Std. im Apparat geschüttelt und weitere 24 Std. bei 37° gehalten. Da die verfügbaren Zentrifugen nicht ausreichten, um die letzten Spuren von Bakterien zu entfernen, da andererseits, wie oben gesagt wurde, die bindende Kraft der Bakterien außerordentlich hoch ist, wurden, um sicher zu gehen, die opaleszenten Flüssigkeiten durch Berkefeld-Liliputkerze filtriert. Die so gewonnenen Flüssigkeiten erwiesen sich gänzlich unfähig, auch nur den bis zur Grenze seiner Wirksamkeit (millionenfach) verdünnten Bakteriophagen abzuschwächen. Diese Versuche wurden noch einmal mit gleichem Ergebnis wiederholt.

Eine 2. Versuchsserie, die mit Antiformin ausgeführt wurde, hatte das gleiche Ergebnis:

Je 1 Schrägagarkultur Flexner l. s. und Flexner l. r. wird abgeschwemmt mit 2,5 ccm Aq. dest., dazu je 0,1 ccm unverdünntes Antiformin gegeben, ebenso zu 2,5 ccm Aq. dest.: nach $^1/_2$ Std. sind die Röhrchen klar. Dann werden sofort Normalsalzsäure bis zu neutraler Reaktion — hier 0,4 ccm — und Natriumthiosulfat bis zum Verschwinden des überschüssigen Chlors, 0,3 ccm einer 5proz. Lösung, zugesetzt. Hierauf werden die beiden Extrakte und die Kontrolle zu gleichen Teilen mit Flexner-Bakteriophage 681 versetzt, 24 Std. bei 8° gehalten und im Verdünnungsversuch ausgewertet.

Beide Extrakte waren ebensowenig wie Aq. dest. fähig, die lytische Kraft des Bakteriophagen zu beeinflussen, selbst wenn dieser bis an die Grenze seiner Wirksamkeit verdünnt wurde.

Zusammenfassung.

1) In Bestätigung der Versuche anderer Forscher wurde festgestellt, daß ein Lysin durch die lysosensiblen homologen Bakterien erschöpft wird. Durch die lysoresistenten homologen Bakterien wird es dagegen nicht abgeschwächt. Es handelt sich also um eine spezifische Bindung. Nur ganz schwache Lysine können unter Umständen auch durch nicht homologe Bakterien abgeschwächt werden. — 2) Bei der Digestion

eines Flexner-Lysins mit lysoresistenten Bakterien trat regelmäßig eine auf Grund unserer heutigen Vorstellungen noch nicht erklärbare Zunahme der Wirksamkeit des Lysins im Vergleich mit der unbehandelten Kontrolle auf. — 3) Die gleichen Bindungsverhältnisse bestehen, wenn die Bakterien bis zu 100° erhitzt werden. Erst einstündige Erhitzung auf 120° hebt die bindende Kraft der Bakterien auf. — 4) Werden umgekehrt die sensiblen Bakterien mehrmals hintereinander mit immer neuen Lysinmengen digeriert, so gelingt es nur äußerst schwer, die lysinbindende Kraft der Bakterien völlig abzusättigen. — 5) Der zugrundeliegende Vorgang wird als eine chemische Bindung aufgefaßt und mit den thermostabilen Rezeptoren der Bakterien für Agglutinine usw. in Analogie gebracht. Versuche, diese Rezeptoren durch Autolyse + Filtration oder durch Antiforminbehandlung von den Bakterienleibern zu trennen, sind nicht gelungen.

Nachdruck verboten.

Paratyphus N.

[Aus dem wissenschaftlichen mikrobiologischen Institut des Volkskommissariats für Gesundheitspflege in Moskau (Direktor: Prof. Dr. W. Barikin).]

Von **S. Klüchin**, Moskau.

Während der Hungerkatastrophe 1921 hatten die epidemischen Erkrankungen in Rußland in erschreckendem Maße um sich gegriffen. Selbst Epidemien, die sonst fast unbemerkt auftauchten und verschwanden, wie das Rückfallfieber, forderten in den Zeiten wirtschaftlichen Verfalls ungeheure Opfer an Menschenleben.

Manche Autoren geben auf Grund ihrer Beobachtungen an, daß die Sterblichkeit an Rückfallfieber, die sonst kaum 3 Proz. betrug, während der letzten Epidemie zwischen 13 und 30 Proz. schwankte [Kuleschka und Titowa (1), Weindrach (2)]. Kuleschka und Titowa finden die Erklärung für eine so auffallend hohe Sterblichkeitsziffer in der Häufigkeit von schweren Komplikationen, die während der letzten Epidemie in vielen Fällen beobachtet wurden, und Waindrach weist auf die Tatsache hin, daß das Auftreten von solchen Komplikationen (Enterocolitis, Oedeme u. a.) in ursächlichem Zusammenhang mit einer Resistenzverminderung des Organismus bei durch Hunger geschwächten Individuen steht. Eine ganze Reihe von anderen Autoren, die gleichfalls Gelegenheit hatten, den Verlauf der Epidemie in den vom Hunger betreffenden Gegenden zu verfolgen, bestätigt diese Auffassung. Snamensky (3) beobachtete bei gleichzeitig bestehenden Oedemen das Auftreten von dysenterieartigen Enteritiden und Colitiden, die er als eine Schädigung der Darmwand im Sinne einer Verminderung ihrer normalen Widerstandsfähigkeit (Oedeme der Darmschleimhaut, Blutungen) deutete. Die Anamnese bei diesen an Oedemen leidenden Patienten wies, wie derselbe Verfasser berichtete, häufig auf ein überstandenes Rückfallfieber oder Fleckfieber; bei letzterem pflegen bekanntlich die Gefäßwandschädigungen besonders häufig zu sein.

Bei vorwiegender Ernährung mit Suppen und geringer Eiweiß- und Fettzufuhr kommt es zu einer beträchtlichen Hydrämie und zu einer Verminderung des Serum eiweißgehaltes. Infolgedessen ist eine ausreichende Ernährung der Gefäßwandzellen unmöglich, und es kommt zu einer pathologischen Durchlässigkeit der Gefäßwände. Klionsky (4) veröffentlichte sein umfangreiches Sektionsmaterial, das von Kindern

stammte, die unter Erscheinungen von Enterocolitis mit Oedemen im Gefolge von Hunger gestorben waren. Es fanden sich regelmäßig im Dünndarm Hyperämie und Blutungen, im Dickdarm Hämorrhagien, Erosionen und Geschwürsbildungen; die Veränderungen waren ausgeprägter, wenn während des Lebens Erscheinungen von seiten des Darmes bestanden hatten. Auf dem Milzdurchschnitt fanden sich kleine, kaum sichtbare graue Fleckchen, in den Nieren Anzeichen von parenchymatöser Degeneration. Bei gleichzeitiger Resistenzverminderung des Gesamtorganismus kommt es also in diesen Fällen auch zu Substanzverlusten und krankhaften Schädigungen der Darmschleimhaut, die unter normalen Verhältnissen einen sicheren Schutz vor dem Eindringen von Mikroorganismen in die Blutbahn gewährt. Wird diese natürliche Schranke auf die eine oder andere Weise durchbrochen, so liegt, wie es die Verusche von Ficker (5) an unterernährten Tieren erwiesen haben, die Möglichkeit vor, daß selbst harmlose Saprophyten in die Blutbahn eindringen. Auch Klimenko (6) kam bei seinen Fütterungsversuchen mit Bac. coli-Kulturen bei Tieren zu den gleichen Ergebnissen.

In seiner Dissertation „Ueber paratyphöse Erkrankungen in der Mandschurei" gelangt Barikin (7) auf Grund zahlreicher Beobachtungen zu dem Schlusse, daß im Zusammenhang mit Unterernährung und allgemeinem Kräfteverfall die Wechselwirkung zwischen Gesamtorganismus und Bakterienflora des Darmes gestört wird, wobei es zu einer Virulenzsteigerung der verschiedenen, auch der gewöhnlichsten Darmbewohner kommt. Unter Ausnutzung eines Locus minoris resistentiae beginnt auf diese Weise der Entwicklungsgang vom harmlosen saprophytischen Mikroorganismus zum echten pathogenen Parasiten. In einem durch Hunger geschwächten Organismus, in dem der gesamte Stoffwechsel wesentliche Veränderungen erleidet, müssen sich natürlich die Beziehungen zwischen Wirt und saprophytischen Keimen in besonderem Maße ändern. Die Untersuchungen Tartarinoffs und Schmelews über Blutfermente beim Hungernden haben gezeigt, daß eine starke Verminderung des Lipase- und Amylase-Gehaltes im Blut sowohl auf einen Schwund der Gewebe und Organzellen (Fett und Kohlehydrate) als auch auf eine Erschöpfung der funktionellen Fähigkeiten des lymphatischen Apparates im Darm hinweisen. Das Vorhandensein von Pryoteasen in nennenswerten Mengen (normalerweise nicht vorhanden) ist nach diesen Verfassern ein Anzeichen von autolytischen Vorgängen, die noch vor dem Tode einsetzten. (Diese Auffassung wird durch den Befund eines den Normalwert um das 3—4fache übertreffenden Reststickstoffgehaltes bestätigt.) Gleichzeitig damit setzt eine Umstimmung der biologischen Eigenschaften der Darmsaprophyten ein, die, wie man annehmen muß, in einer Virulenzsteigerung gegenüber dem geschwächten Wirtsorganismus besteht. Aehnliche Gedankengänge finden sich auch bei Prell (9), der aus dem Stuhl Typhus- und Dysenteriekranker und ebenso bei anderen Darmkrankheiten Varietäten des Bacterium coli züchten konnte, die in ihren Eigenschaften der Paratyphus B-Gruppe ähnlich waren. Das Auftreten solcher Varietäten ist nach Auffassung des Autors durch Veränderung der Lebensbedingungen der Darmsaprophyten im Verlaufe der Infektion bedingt. Sanarelli (10) beobachtete gleichfalls bei künstlicher Infektion von Laboratoriumstieren mit Cholera eine Virulenzsteigerung des Bact. coli commune, die einen tödlichen Ausgang dieser Mischinfektion zur Folge hatte. Auch bei typhösen Erkrankungen wurden von demselben Verfasser ähnliche Beobachtungen gemacht. Er hält deshalb den Analogieschluß auf gleichartige Veränderungen des Bact. coli commune beim Menschen im Verlauf der erwähnten Infektionskrankheiten für durchaus berechtigt.

Es erhebt sich die Frage, ob nicht auch die schweren septischen Formen des Rückfallfiebers mit ihren Komplikationen, wie sie im Verlauf der Epidemie 1921/22 auftraten, als Resultat einer Virulenzsteigerung der Saprophyten bei gleichzeitiger Herabsetzung der Widerstandsfähigkeit sowohl des gesamten Wirtsorganismus als besonders der geschädigten Darmwand selbst aufzufassen sind. Vielleicht wäre dadurch auch die Mannigfaltigkeit der klinischen Erscheinungen und der pathologisch-anatomischen Veränderungen dieser Komplikationen, die in der ausgezeichneten Arbeit von Kulescha und Titowa genau beschrieben sind, zu erklären. Bald waren es Krankheitsbilder, die in ihrem Symptomenkomplex an das biliöse Typhoid erinnerten [Iwaschentzew (11)], bald glichen sie der Cholera oder dem Abdominaltyphus (Brodsky [12]), oder verliefen unter dem Bilde einer einfachen infektiösen Enterocolitis [Kogan (13)]; bei manchen Fällen standen wiederum Perichondritiden [Herman und Bessonow (14)], Arthritiden und Neuritiden im Vordergrunde der Krankheitserscheinungen. Neukirch (15) hat 1915—1917 in der Türkei Komplikationen von septikämischem Charakter gesehen, die mit den soeben erwähnten Formen ihrem klinischen Verlaufe nach große Aehnlichkeit besitzen und die nicht

nur nach Rückfallfieber, sondern auch nach Fleckfieber, Malaria und Dysenterie beobachtet wurden[1]).

Das Interesse der ärztlichen Kreise für die Aetiologie der Rückfallfieberkomplikationen erwachte 1920 im Zusammenhang mit der ersten Reinzüchtung eines Mikroorgansimus aus Patientenblut und Leichenorganen durch Kulescha. Die kulturelllen Eigenschaften des gezüchteten Mikroorganismus stimmten im wesentlichen mit denen der Paratyphusgruppe überein. Während der Epidemien 1921/22 wurde derselbe Erreger von Iwaschentzew (Petrograd), Marzinowsky (Moskau), Woronina (Krasnodar), Ginsburg (Woronesa) und von einer Reihe anderer Autoren in den verschiedensten Gegenden Rußlands nachgewiesen. Im März 1922 wurden auch von mir unter freundlicher Mitarbeit von Dr. M. G. Raschina in 11 analogen Fällen von mit Komplikationen verlaufenden Rückfallfiebern derselbe Erreger aus Blut und Stuhl von kranken Gefängnisinsassen der „Butyrskaja Tjurma" (Moskau) isoliert.

Auf dem 6. allrussischen Bakteriologen- und Epidemiologenkongreß (1922) wurde die Frage der ätiologischen Bedeutung und der Zugehörigkeit des gefundenen Erregers ausführlich behandelt. Iwaschentzew schlug wegen der großen Aehnlichkeit der kulturellen Eigenschaften mit der Paratyphusgruppe den Namen „Bac. N-paratyphi" für den entdeckten Erreger vor. Kulescha äußerte die Ansicht, daß der Erreger bei der Einordnung ins bakterielle System eine selbständige Stellung innerhalb der Paratyphusgruppe einnehmen müßte, da er imstande sei, eine spezifische septikämische Erkrankung mit charakteristischen Symptomen vorwiegend beim Menschen, aber auch beim Tier hervorrufen. Aus diesem Grunde nannte er ihn später „Bacillus septicopyaemicus". Marzinowsky und Woronina neigten dazu, den von ihnen isolierten Erreger in die Gruppe der hämorrhagischen Septikämie einzuordnen. Die Diskussionsbemerkungen der Autoren ergaben schon auf dem Kongreß, daß die Beschreibungen der verschiedenen Erreger nicht in allen Punkten miteinander übereinstimmten — die Frage der Art und Zugehörigkeit des Erregers blieb deshalb damals unentschieden.

Auf Anregung von Herrn Prof. W. A. Barikin haben wir es unternommen, die Paratyphus N-Kulturen der verschiedenen Autoren an Hand der näheren Angaben des betreffenden Züchters miteinander zu vergleichen, um auf diese Weise die Frage der Erregernatur zu entscheiden. Um zu einem Ergebnis zu gelangen, hielten wir die Beantwortung der folgenden grundlegenden Fragen für erforderlich:

1) Handelt es sich bei den von verschiedenen Autoren isolierten Stämmen von Parathyphus N um einen in kultureller und serologischer Hinsicht identischen Erreger? — 2) Wie groß ist die bestehende Aehnlichkeit mit der Paratyphus-Gruppe? — 3) Besteht ein verwandtschaftliches Verhältnis zu der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie?

4) Was für Beziehungen bestehen zu den polar entgegengesetzten Vertretern der Coli-Typhusgruppe: dem Bacterium coli einerseits, dem Bazillus Eberth andererseits? (S. Tabelle S. 398 u. 499.)

Wie aus der beigefügten Tabelle zu ersehen ist, verhalten sich die einzelnen Stämme bei Züchtung auf verschiedenen Nährböden durchaus nicht gleichartig. Bei Züchtung auf Lackmusmolke nach Petruschky verändern z. B. einige Stämme den Nährboden in kurzer Zeit bei darauffolgender schnellerer Rückkehr zur früheren Färbung, andere bewirken erst nach 3 Tagen kirschrote Färbung, während ein Farbenumschlag ausbleibt, bei 2 Stämmen erfolgt endlich dauernde Rotfärbung des Nährbodens.

Aussehen und Größe der Kolonien auf Gelatine und Agar ist sehr verschiedenartig — es fanden sich alle Uebergänge von feinkörnigen, durchscheinenden Kolonien mit leichtbläulichem Schimmer bis zur großen

1) Im Semaschko-Hospital kam nach Mitteilung Morgensterns ein Fall von Paratyphus N im Anschluß an Abdominaltyphus zur Beobachtung.

Stamm	Wo und von wem isoliert	Morphologie	Beweglichkeit	Gramfärbung	Sporenbildung	Hitzebeständigkeit	Reduktionsvermögen gegenüber Fe-Salzen	Agar
6	Moskau Dr. Klüchin	Kokkobazillus	beweglich	gramnegativ	keine Sporenbildung	wird bei 56° abgetötet	fast gar nicht reduziert	feinkörnige bläuliche Kolonien
10	Rostow a. D. Dr. Jermoljewa	bipolares Stäbchen	dgl.	dgl.	dgl.	bei 56° nicht abgetötet	schwach reduziert	große Kolonien
14	Moskau Dr. Klüchin	dgl.	„	„	„	dgl.	dgl.	dgl.
18	Petrograd Dr. Iwaschentzew	Kokkobazillus	„	„	„	bei 56° abgetötet	„	feinkörnige bläuliche Kolonien
19	Petrograd Dr. Iwaschentzew	bipolares Stäbchen	„	„	„	bei 56° nicht abgetötet	starke Reduktion	dgl.
20	Moskau Prof. Marzinowsky	dgl.	„	„	„	dgl.	keine Reduktion	halb durchscheinende Kolonien mit Randaussparung.
23	Woronesch Dr. Ginsburg	Kokkobazillus	„	„	„	bei 56° abgetötet	schwach reduzierend nach 3 Tagen	dgl.
26	Krassnodur Dr. Woronina	dgl.	„	„	„	dgl.	dgl.	Kolonien von verschiedener Größe mit Randaussparungen
27	Moskau Dr. Ssaweljew und Mitarbeiter	„	„	„	„	„	„	dgl.
28	„	„	„	„	„	„	„	„
29	„	„	„	„	„	„	„	„
30	„	„	„	„	„	„	„	„

opaken Kolonie mit Aussparungen an den Randpartien, die große Aehnlichkeit mit Coli-Kolonien hatten.

Indolbildung war bei der Mehrzahl der Stämme zu beobachten (besonders nach leichtem Erwärmen), während sie bei einigen Stämmen vollständig fehlte.

Gelatine	Bouillon	Endo	Mannit	Kartoffel	Lakmusmolke	Milch	Indol
keine Verflüssigung	gleichmäßige Trübung mit etwas Bodensatz	keine Veränderung des Nährbodens	starke Gärung	mittelstarkes Wachstum mit gelblich. Farbton	allmähliche Rotfärbung, kein Umschlag	keine Gerinnung, saure Reaktion	deutliche Indolbildung
dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	am 14. Tg. Aufhell., alkalische Reaktion	dgl.
„	„	„	„	„	„	dgl.	„
„	„	„	„	„	„	keine Gerinnung, saure Reaktion	„
„	„	„	geringe Gärung	kräftiges Wachstum, bräunlicher Farbton	starke Rotfärbung, dann deutlicher Umschlag	alkalische Reaktion	in Spuren vorhanden
„	„	„	dgl.	kaum bemerkbarer weißlicher Belag	dgl.	dgl.	dgl.
„	„	„	mäßig starke Gärung	kräftiges Wachstum, bräunlicher Farbton	bleibende Rotfärbung	neutrale Reaktion	keine Indolbildung
„	„	„	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.	deutliche Indolbildung
„	„	„	„	„	allmähliche Rotfärbung, kein ausgesprochener Farbumschl.	„	keine Indolbildung
„	„	„	„	„	dgl.	„	dgl.
„	„	„	„	„	„	„	„
„	„	„	„	„	„	„	„

Milch wurde von keinem der Stämme zur Gerinnung gebracht, während bei einzelnen nach 14 Tagen eine Aufhellung des Nährmediums mit leicht bräunlicher Verfärbung auftrat. Die Reaktion erwies sich in diesen Fällen als alkalisch, in den anderen war sie schwach sauer oder neutral.

Auf Endo-Agar trat in der Regel keine Verfärbung auf. Bei Stamm 23 und 26, die in Lackmusmolke Rotfärbung ohne Farbumschlag hervorriefen, nahmen die einzelnen Kolonien auf Endo-Platten nach wiederholter Ueberimpfung blaßrötliche Färbung an. Diese beiden Stämme, deren Reinheit und agglutinatorisches Verhalten gegenüber spezifischem Serum nachkontrolliert wurde, wuchsen auch in Endo-Stichkulturen unter leichter Rotfärbung des Nährbodens vom 3. Tage ab.

In Glukose- und Mannit-Nährböden war das Gärungsvermögen nicht bei allen Stämmen gleich ausgesprochen. Einzelne Stämme veränderten die Nährböden erst vom 3. Tage ab, wobei die Intensität der Vergärung bei den verschiedenen Stämmen deutliche Unterschiede aufwies.

Das Reduktionsvermögen, welches von uns nach dem Verfahren von Grinew und Beljawzew geprüft wurde, zeigte gleichfalls große Schwankungen. Bei einzelnen Stämmen tritt die Reaktion ebenso wie bei Paratyphus B bereits innerhalb 24 Std. auf, andere Stämme verändern den Nährboden ebenso wie Bacterium coli fast gar nicht, wieder andere reduzieren nur schwach, erst nach 3 Tagen, wie Paratyphus A.

Bei Kartoffelnährböden wuchsen einzelne Stämme ganz ähnlich wie Paratyphus B in Form üppiger bräunlicher Beläge, andere bildeten, wie Bacterium coli, einen fettglänzenden Belag von gelblichem Farbton; auch Paratyphus A-ähnliches Wachstum in Form eines weißen, kaum bemerkbaren Ueberzuges wurde beobachtet.

Die Prüfung der Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzung ergab ebenfalls Unterschiede. Einige Stämme wurden bei 56° C im Laufe 1 Std. abgetötet, andere erst bei 58° und 60°. Durch 15 Min. langes Erhitzen auf 70° wurden sämtliche Stämme abgetötet (ebenso in 5 Min. bei 74°).

Auch die Virulenz der einzelnen Stämme variiert erheblich. $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur von Stamm 19 tötete ein Kaninchen in 24 Std., während Stamm 10 und 18 bei Verwendung derselben Dosis beim Kaninchen eine Erkrankung von 3—14tägiger Dauer und Stamm 20 und 6 bei gleicher Dosierung keine Krankheitserscheinungen hervorrief. Der klinische Verlauf der experimentellen Infektion im Tierversuch verhält sich in den einzelnen Fällen auch wechselnd. In einigen Fällen standen meningitische Erscheinunge im Vordergrude (Stamm 18). Die erkrankten Tiere gingen im Laufe von 48 Std. zugrunde. In anderen Fällen wurden Darmstörungen und Lähmung der hinteren Extremitäten beobachtet (Stamm 23, 27 und 10), in einzelnen Fällen — äußerst akuter Verlauf und Tod innerhalb 24—48 Std. (Stamm 26 und 19); zuweilen verlief die Infektion dagegen protrahiert unter allmählicher Abmagerung, Gewichtsabnahme und Intoxikationserscheinungen (Stamm 20, 23 und 14).

Die Sektion ergab bei 12 Kaninchen, welche der Infektion mit den verschiedenen Stämmen erlegen waren, regelmäßig folgende pathologisch-anatomische Veränderungen: Blutungen in der Leber, Blutungen und Eiterherde in den Nieren, Milzschwellung, Hyperämie des Gehirns, Blutungen in der Darmschleimhaut, den Lungen und der Herzmuskulatur. In den chronisch verlaufenen Fällen wurde anstelle einer hämorrhagischen Septikämie das Bild einer Septikopyämie beobachtet.

Die im folgenden angeführten Protokolle zeigen die Ergebnisse der Infektionsversuche mit Paratyphus N-Stämmen an Kaninchen:

1) Kaninchen. Stamm 19. Gewicht 2330,0 g. 13. 1. 1923 intravenöse Injektion von $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur von Paratyphus N-Stamm Nr. 19 in die Ohrvene. Abends Temperatur 40,1, am nächsten Tage profuse Durchfälle, Fell gesträubt, Atmung beschleunigt, Parese der vorderen Extremitäten, Temperatur 40,5. Gewicht 2000,0. Abends Temperatur 35,3, tot.

Bei der Sektion Schwellung und Hyperämie der Darmschleimhaut und Serosa. Seröse Ueberzüge der Bauchhöhle leicht ikterisch. Leberschwellung, zahlreiche verstreute weißliche Fleckchen auf der ikterisch verfärbten Leberoberfläche. Gehirn stark hyperämisch.

Die Untersuchung der pathologisch-histologischen Veränderungen, die durch Dr. Sacharoff im Laboratorium des Semaschko-Hospitals ausgeführt wurde, ergab das Bild einer hämorrhagischen Sepsis und eitrigen Meningitis. In den Nieren starke Infektion der Kapillaren, stellenweise punktförmige Blutungen, proliferative Zellanhäufung um die kleinen Gefäße. Endothelproliferation in den Glomerulusschlingen, trübe Schwellung an den Epithelien der gewundenen und geraden Harnkanälchen. In der Leber starke Kapillarinfektion, Proliferation von Endothelzellen und frei im Gefäßlumen liegende monozytenähnliche Zellen. Gallengänge erweitert, in denselben desquamierte Endothelzellen. Milz sehr blutreich, Blutungen in der Umgebung der Follikel. Blutextravasate im Lungengewebe und den Bronchien. Im Kleinhirn starke Injektion der Kapillaren, stellenweise Blutungen, Proliferation der meningalen Zellen mit freiliegenden Zellen vom Typus der Phagozyten (polynukleäre Leukozyten), um die Gefäße starke leukozytäre Infiltration. In der Pia zahlreiche Blutungen und reichliche Mengen von Leukozyten und Polyblasten. Die pialen Gefäße in ihrem Verlauf von eitrigen Infiltrationen begleitet.

2) Kaninchen. Stamm 26. Gewicht 1985,0 g. 13. 1. 1923 intravenöse Injektion von $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur von Stamm Nr. 26. Abends Temp. 39,9, am folgenden Tage Temp. 40,5, Gewicht 1690 g. 15. 1. morgens Temp. unter 35,0. Völlige Prostation, Gewicht 1372,0 g, nach einigen Std. tot.

Die Sektion ergibt starke Hyperämie des Dick- und Dünndarms. Erweiterung der Gallenblase. Leber geschwollen, mit zahlreichen kleinen Eiterherdchen; desgleichen in den Nieren unter der Kapsel. Starke Hyperämie des Gehirns.

3) Kaninchen. Stamm 23. Gewicht 1615,0 g. 13. 1. 1923 intravenöse Injektion von $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur vom Stamm Nr. 23. Abends leichte Temperaturerhöhung, an den folgenden Tagen keinerlei Krankheitserscheinungen. Am Ende der 2. Woche plötzlich Parese der hinteren Extremitäten. Nach einer weiteren Woche erfolgt unter fortschreitender Gewichtsabnahme der Tod.

Die Sektion ergibt das Bild eines septikämischen Prozesses.

4) Kaninchen. Stamm 10. Gewicht 1960,0 g. 13. 1. 1923 intravenöse Injektion von $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur von Stamm Nr. 10. Abends Temp. 40,0. Am folgenden Tage Durchfall, Temp. 39,5, Gewicht 1770. 15. 1. tritt zu den Darmerscheinungen Parese der hinteren Extremitäten. Am 16. 1. kein Durchfall mehr. Abszeß in der Gegend des linken Hüftgelenkes. Nach einer Woche völlige Wiederherstellung.

Die vergleichenden serologischen Untersuchungen mit Hilfe der gekreuzten Agglutination und des Castellanischen Versuches ergaben große Differenzen zwischen den einzelnen Paratyphus N-Stämmen.

So agglutinierte z. B. das zu Stamm 19 gehörige Serum, das einen Agglutinationstiter von 3000 gegenüber dem homologen Stamm besaß, die anderen Stämme nur in Verdünnung von 1 : 100, 1 : 200 und 1 : 300, während 4 Stämme überhaupt nicht agglutiniert wurden. Das zu Stamm 18 gehörige Serum mit einem Agglutinationstiter von 2000 agglutinierte die übrigen Stämme in folgenden Verdünnungen: 1 : 800, 1 : 600, 1 : 300 und 1 : 50 (Stamm 19), 3 Stämme gar nicht. Das homologe Serum zum Stamm 10 (Titer 1000) agglutinierte in Verdünnungen 1 : 600, 1 : 400, 1 : 300, 3 Stämme nicht. Das Serum von Stamm 20 (Titer 1000) agglutinierte Stamm 18 und 23 fast bis zur Titergrenze, andere in Verdünnungen von 1 : 600, 1 : 400, 1 : 200, einen Stamm nicht. Serum vom Stamm 23 agglutinierte in Verdünnungen 1 : 1000, 1 : 600, 1 : 500, 1 : 200 und 1 : 50, Agglutination blieb aus bei 2 Stämmen.

Interessant ist die Tatsache, daß Stamm 18, der nach Infektion eines Kaninchens aus den Organen des zugrunde gegangenen Tieres gezüchtet wurde, nach der Tierpassage bei Agglutination durch das zu

Stamm 18 gehörige Serum eine wesentlich niedrigere Titergrenze hatte als die Ausgangskultur. Auf diese Inkonstanz der serologischen Eigentümlichkeiten ein und desselben Stammes wurde schon von Neukirch und von Malyschew hingewiesen.

Kein einziger der untersuchten Paratyphus N-Stämme ergab mit Paratyphus B-Serum (Titer 40000) oder Paratyphus A-Serum (Titer 25000) positive Agglutination, und umgekehrt wurde weder Bac. paratyphi B noch Bac. paratyphi A durch die Paratyphus N-Sera agglutiniert. Dieselben Ergebnisse hatten Agglutinationsversuche mit Kulturen von hämorrhagischer Septikämie, Typhus und Coli. Bei letzterem hatten wir allerdings eine Ausnahme: Ein Coli-Serum (Titer 1000) agglutinierte Stamm 23 und 27 in Verdünnungen von 1:300, 1:400.

Kulescha, ebenso Woronina (16), fanden eine serologische Zusammengehörigkeit der Paratyphus N-Stämme weder mit Coli noch mit Typhus oder Paratyphus-Stämmen, während die Versuche Malyschews nach seinen Angaben für serologische Verwandtschaft des Paratyphus N mit Paratyphus A und B sprechen. Erschöpfungsversuche an Paratyphus N-Seren nach Castellani bestätigen die Ergebnisse unserer gekreuzten Agglutinationsversuche und zeigten uns das Bild einer größeren Variationsbreite der einzelnen Stämme. Interessant ist die Beobachtung, daß bei unserem Coli-Stamm, den wir vom „Sanitär-Hygienischen Institut des Volkskommissariats für Gesundheitswesen" erhalten hatten, bei längerer Wachstumsdauer auf künstlichen Nährböden ohne Ueberimpfung die Indolbildung geringer, die fermentative Wirkung gegenüber Milch und Milchzucker schwächer wurde, und die Eigenschaft auftrat, die Agglutinine des Paratyphus N-Immunserums vom Stamm 20 vollständig zu adsorbieren.

Unsere Versuche zeigten, daß Stamm 6, 14, 23, 30 keine gemeinsamen Agglutinine mit Stamm 19 in dem zu dem letzteren gehörenden agglutinierenden Serum hatten. Ebenso verhielten sich Stamm 19, 27, 30 und Stamm 18; Stamm 23, 27, 28 zu Stamm 10; Stamm 14 und 19 zu Stamm 21. Es ergab sich also weder eine serologische Zugehörigkeit zu Paratyphus A und B, noch zur Gruppe der hämorrhagischen Septikämie, noch zu Typhus- und Coli-Bazillen. Nur der bereits erwähnte Coli-Stamm, bei dem Indolbildung und fermentative Wirksamkeit herabgesetzt war, zeigte in serologischer Hinsicht gewisse verwandtschaftliche Beziehungen zu Stamm 20. Ob man diese Erscheinung in einen Zusammenhang mit der Veränderung der biochemischen Eigenschaften des Bact. coli commune bringen soll (Indol war nur in Spuren vorhanden, Milch wurde peptonisiert, Endo-Agar wurde am 5. Tage leicht verändert), oder ob dieser Stamm schon normalerweise mit den Kulturen des Paratyphus N-Stammes 20 einige serologischen Eigentümlichkeiten gemein hatte, ist schwer zu entscheiden, zumal da die Eigenschaften des Stammes nicht von vornherein unmittelbar nach seiner Isolierung geprüft waren. Wenn wir die Untersuchungen Eisenbergs (18), Prells und Fabrys (19) berücksichtigen, die an Coli-Stämmen Züchtungsversuche unter ungünstigen Wachstumsbedingungen anstellten (längeres Wachstum auf Laboratoriumsnährböden ohne Ueberimpfung, Züchtung auf Nährböden unter Zusatz von giftigen Substanzen usw.), wenn wir dabei die Tatsache in Betracht ziehen, daß es den letzteren gelungen ist, eine Varietät des Bacterium coli zu erhalten, die sich durch fehlende Indolreaktion und durch ihr sero-

logisches Verhalten von der Ausgangskultur unterschied, so liegt die Vermutung nahe, daß auch wir es bei unserem Stamm mit einer ähnlichen Veränderung der serologischen Eigentümlichkeiten zu tun hatten. Ebenso berechtigt wäre allerdings die Vermutung, daß die Aenderung des serologischen Verhaltens des Stammes bereits im Wirtsorganismus aufgetreten sei. Indirekt würde diese Möglichkeit in den Versuchen Okuloffs[1]) eine Bestätigung finden, der 2 Coli-Stämme züchtete, die durch Paratyphus N-Serum in starken Verdünnungen agglutiniert wurden. Es ist durchaus nicht unmöglich, daß die Saprophytenflora des Darmes, vor allem das Bacterium coli, unter der Notwendigkeit, sich in der Zeit einer allgemeinen Unterernährung, wie sie in Rußland während der Jahre 1919—1921 festzustellen war, an die veränderten Lebensbedingungen im Wirtskörper anzupassen, ihre biologischen Eigentümlichkeiten verändern mußte. Durch Selektion erschienen neue Varietäten, die mitunter von der Muttergeneration erheblich abwichen, in anderen Fällen vielleicht nur geringe Unterschiede aufwiesen, je nach den durch die Ernährungsbedingungen geschaffenen Veränderungen im Wirtsorganismus.

Durch Züchtung eines Coli-Stamms bei ungünstigen Wachstumsbedingungen (zusammen mit Bazillus Eberth, in Bouillon im Verlaufe von 2 Monaten ohne Ueberimpfung, auf Nährböden mit Eiweißzusatz, Karbolagar, Bouillon mit $CuSO_4$-Zusatz, Peptonwasser ohne Salz) konnten wir uns davon überzeugen, daß unter diesen Bedingungen das Wachstum vom normalen Typus abweicht und die Eigenschaften der Kulturen mit denen von Paratyphus N Aehnlichkeit bekommen. Genauer wurden von uns diejenigen Kulturen untersucht, welche auf Agar und Gelatine den Paratyphus N-Kolonien besonders ähnlich sahen. Morphologische Unterschiede zwischen diesen Coli-Varietäten und dem Paratyphus N waren nicht vorhanden, es fanden sich Formen mit Polendenfärbung, auch solche vom Kokkobazillentypus. Indolbildung und fermentative Eigenschaften gegenüber Milch und Milchzucker waren deutlich verringert, Milch wurde nur peptonisiert. Der längere Zeit in Peptonwasser ohne Salzgehalt fortgezüchtete Stamm ergab endlich mit dem Paratyphus N-Serum (Stamm 10, 18, 20) positive Agglutination in Verdünnung von 1:120, 1:80, 1:50. Es lag natürlich die Vermutung nahe, daß die Erwerbung neuer serologischer Eigenschaften durch den Coli-Stamm vielleicht durch eine Veränderung der osmotischen Verhältnisse infolge des Salzmangels in den verwendeten Nährmedien bedingt sei. Allein nach Ueberimpfung dieser Coli-Varietät auf gewöhnliche Nährböden zeigte sich, daß die Agglutinabilität durch Paratyphus N-Serum noch weiter gestiegen war. Die in Traubenzuckerbouillon gezüchteten Kulturen erreichten sogar mit Serum von Stamm 20 (Titer 1000) einen Agglutinationstiter von 1:320. Mit den Seris der anderen Paratyphus N-Stämme gab dieser Coli-Stamm nur in geringen Verdünnungen oder gar keine Agglutination.

Außerdem erwies sich der modifizierte Coli-Stamm als stark pathogen für Tiere — $^1/_{20}$ Oese einer 24stünd. Agarkultur genügte, um bei einem Kaninchen von 2800,0 g Gewicht eine innerhalb 48 Std. tödlich verlaufene Infektion hervorzurufen. Die gleiche Dosis der Aus-

1) Anm. Während der Diskussion zu meinem auf dem VII. Bakteriologen-Kongreß gehaltenen Vortrag berichtete Dr. Okulow (Rostow a. Don), daß er 2 Coli-Stämme besäße, die durch Paratyphus N-Serum in Verdünnungen 1:6000, 1:8000 agglutiniert würden.

gangskulturen desselben Stammes tötete ein Kontrolltier erst am 17. Tage nach der Infektion. Die Sektion des an der Coli-Infektion zugrunde gegangenen Tieres zeigte das Bild einer hämorrhagischen Septikämie. Die pathologisch-anatomischen Veränderungen in den Organen lassen sich folgendermaßen zusammenfassen: Starke Hyperämie der Lungen, Alveolen mit roten Blutkörperchen vollgestopft, in einzelnen Partien von serös-hämorrhagischem Exsudat erfüllt. In den Bronchien eitrig-schleimige Pfröpfe. Starke Hyperämie der Milz mit Blutungen, stellenweise kleine nekrotische Herde. Proliferation der Gefäßendothelien und der Pulpazellen. In den Nieren starke Hyperämie der Kapillaren, in einigen gewundenen Harnkanälchen feingranulierte Zylinder, Hyperämie der Leber, fleckweise kleine Zellinfiltrate, Anhäufung von Monozyten und Polyblasten. Hyperämie der Darmschleimhaut, geringe Epithelesquamation. Starke Hyperämie des Gehirns, an einzelnen Stellen Blutextravasate in der Umgebung der Gefäße.

Damit war erwiesen, daß die von uns gezüchtete Coli-Varietät nicht nur in kultureller und serologischer Hinsicht, sondern auch in bezug auf die pathogenen Eigenschaften die größte Aehnlichkeit mit den Paratyphus N-Stämmen besitzt. Die nahe Verwandtschaft der beiden Arten von Mikroorganismen konnten wir ferner auch durch die Methode der „tubes grattés" der alten französischen Autoren beweisen. Die Versuche zeigten uns, daß die Ernährungs- und Wachstumsbedingungen der Paratyphus N- und unserer Coli-Kulturen die gleichen sind: Stamm 18, 20, 23 und 26 wuchsen nach Abkratzen eines Coli-Rasens nicht, während sie nach vorausgegangenem Wachstum von Paratyphus A oder B genügende Wachstumintensität zeigten. Auch die einzelnen Paratyphus N-Stämme scheinen bezüglich ihrer physiologischen Ernährungsform zu differieren. Während Stamm 10, 18, 20 und 26 nach Entfernung eines anderen Rasens nicht wuchsen, war bei Stamm 19 nach vorausgegangenem Wachstum von Stamm 10 deutliches Wachstum zu erkennen. Auch Stamm 23 zeigte nach Stamm 19 geringes Wachstum.

Auf Grund unserer Untersuchungen glauben wir folgende Schlußfolgerungen ziehen zu dürfen:

1) Die bei Rückfallfieberkomplikationen (sowie Komplikationen im Verlauf anderer schwerer Infektionskrankheiten) von verschiedenen Autoren isolierten Paratyphus N-Stämme zeichnen sich in serologischer und kultureller Beziehung durch große Variabilität aus. — 2) Die klinischen Erscheinungsformen der experimentellen Infektion mit den einzelnen Paratyphus N-Kulturen sind sehr vielgestaltig, ebenso auch die pathologisch-anatomischen Veränderungen. — 3) In serologischer Hinsicht bestehen Beziehungen der Paratyphus N-Stämme zur Paratyphus-Gruppe ebensowenig wie solche zu den echten Typhusbazillen und den Erregern der hämorrhagischen Septikämie. — 4) Eine Coli-Varietät, die sich aus der Züchtung unter ungünstigen Wachstumsbedingungen ergab, zeigte in ihren kulturellen Eigenschaften mit den Paratyphus N-Stämmen große Aehnlichkeit[1]).

Andererseits scheint es nicht berechtigt zu sein, den Paratyphus N als eine selbständige Krankheit aufzufassen,

1) Anm. In der Diskussion zu meinem auf dem VII. Bakteriologenkongreß gehaltenen Vortrag teilte Iwanschentzew mit, daß ein von ihm gezüchteter Paratyphus N-Stamm gleichfalls der Coli-Gruppe nahezustehen scheint.

da in epidemiologischer Beziehung von keinem nosologisch einheitlichen Krankheitsbild gesprochen werden kann. In unseren Versuchen wurde eine Uebertragung von Tier zu Tier in keinem Falle beobachtet, trotzdem sich die Tiere in engster Berührung befanden. Auch in der umfangreichen Literatur, die sich im Verlauf der letzten Jahre auf diesem Gebiete angesammelt hat, ist nicht ein einziger Fall von direkter Uebertragung der Krankheit durch erkrankte Personen erwähnt.

Aus diesen Gründen möchten wir unsere Ansicht dahin zusammenfassen, daß es einen Mikroorganismus, den man als Paratyphus N-Erreger bezeichnen könnte, nicht gibt. Die während der Epidemie des Jahres 1920—22 bei verschiedenartigen Rückfallfieber Komplikationen, für die von den Autoren die Bezeichnung Paratyphus N geprägt ist, gezüchteten Stämme nichts anderes sind, als eine Gruppe von Varietäten, die dem Bact. coli commune nahestehen. Es besteht demnach die zuerst von W. Barikin geäußerte Ansicht zu Recht, daß aus den Vertretern der Coli-Gruppe in einem durch Hunger oder vorausgegangener Infektionskrankheit geschwächten Wirtsorganismus durch Selektion eine Reihe von Varianten entstehen kann, die sich zwar in bezug auf ihre biochemischen Eigenschaften verschiedenartig verhalten, die aber durch ihren gleichartigen Ursprung und ihre Stellung zwischen dem klassischen Bacterium coli und der Paracoli- und der Paratyphus-Gruppe zusammengehören.

Von diesem Gesichtspunkt aus wird auch das labile Verhalten der Paratyphus N-Stämme verständlich. Jeder einzelne Vertreter der Erregergruppe kann unter den wechselnden Bedingungen, die der Kampf ums Dasein in jedem einzelnen Falle stellt, nicht in gleicher Weise mit einer Veränderung der von der Muttergeneration übernommenen Eigenschaften reagieren.

Auch für die auffallende Tatsache, daß während der Recurrensepidemie des Herbstes und Winters 1922/23 der Paratyphus N fast vollständig fehlte, läßt sich die Erklärung finden. In dem Zeitpunkt, wo die wirtschaftlichen Verhältnisse des Landes einen Aufschwung nahmen und sich damit auch die Lebensbedingungen gerade derjenigen Bevölkerungsgruppen (Gefängnisinsassen, Rotarmisten, Flüchtlinge) besserten, die während der Hungerperiode dank der außerordentlich schweren Notlage, in der sie sich befanden, besonders anfällig und widerstandsfähig waren, verschwanden die septischen Komplikationen und das Rückfallfieber nahm seinen früheren normalen Verlauf, die Mortalität hielt sich innerhalb der gewöhnlichen Grenzen.

Man könnte sagen, daß es die Natur selbst gewesen sei, die hier einen großen Versuch über die Veränderungsfähigkeit der Bakterien angestellt hätte und, wenn sich dieser Versuch, der jetzt glücklicherweise seinen Abschluß gefunden hat, noch längere Zeit fortgesetzt hätte, so hätten wir vielleicht die neue Art eines Erregers mit endgültig erworbenen und charakteristischen Eigentümlichkeiten vor uns gehabt.

Zum Schlusse halte ich es für meine Pflicht, meinem hochverehrten Herrn Prof. Barikin für die Ueberlassung der Arbeit und für seine freundliche Anleitung meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Frau Dr. M. Raschina verdanke ich die Beschaffung des Krankenmaterials, Herrn Dr. Sacharoff die freundliche Hilfe bei den pathologisch-anatomischen Untersuchungen an den Versuchstieren.

Literatur.

1) Kulescha u. Titowa, Pathologische Anatomie und Aetiologie der Rückfallfieberkomplikationen. (Wratschebnaja Gazeta. 1922. Nr. 3—8.) — 2) Weindrach, Rückfallfieber und Unterernährung. (Wratschebnoje Djelo. 1922. Nr. 16—20.) — 3) Smamenski, N., Sammelbericht „Ueber den Hunger". S. 123. Moskau (Nautschnaja Myssl) 1922. — 4) Klionsky, S., ebenda S. 142. — 5) Ficker, Arch. f. Hyg. 1905. S. 354; 1906. S. 56. — 6) Klimenko, zit. nach A. Ttschitschkin, Der Verdauungstraktus in bakteriologischer Beziehung. Moskau (Jakowlew) 1907. — 7) Barakin, W., Paratyphöse Erkrankungen in der Mandschurei. [Dissert.] St. Petersburg 1906. — 8) Tatarinoff, E. A., u. Schmelew, A. A., Die Blutfermente bei Hungernden. (Gesundheitsber. Nr. 2. Saratow 1923. S. 23—28.) — 9) Prell, H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1917. H. 5. — 10) Sanarelli, G., Ann. de l'Inst. Pasteur 1923. Nr. 5. — 11) Iwaschentzew, G. A., Netschaew-Sammelheft 10. 1920. — 12) Brodsky, J. F., Medizinskaja Myssl. 1922. p. 393. — 13) Kogan, ibid. 1922. S. 466. — 14) Herman u. Bessonow, Ztschr. d. Mikrobiolog. Instit. Saratow. 1923. — 15) Neukirch, Ztschr. f. Hyg. Bd. 85. 1915—1917. — 16) Woronina, E. W., Medizinskaja Myssl. 1922. Nr. 5—8. — 17) Malyschew, B., Prophylaktitsche Medizinskaja. 1923. Nr. 1—2. — 18) Eisenberg, P. H., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 80. 1918. H. 7. — 19. Fabry, P., Ann. de l'Inst. Pasteur. 1920. Nr. 9.

Nachdruck verboten.

Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen (Baz. Pfeiffer).

I. Mitteilung: Herstellung eines festen vitaminhaltigen Nährbodens und Verhalten der vitaminhaltigen Substanzen in diesem.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Breslau (Direktor: Geh. Rat Prof. Dr. Pfeiffer).]

Von **Werner Kollath,**
Assistenten am Institut.

Pfeiffer hat seinerzeit bei der Züchtung des von ihm entdeckten Influenzabazillus festgestellt, daß auf völlig klarem, zellfreiem Blutserum kein Wachstum der IB eintrat, daß dagegen gründlich gewaschene rote Blutkörperchen wirksam waren; er vermutete als wirksame Substanz das Hämoglobin, das er aus den roten Blutkörperchen gewann (durch Gefrieren, Wiederauftauen, Ausschütteln mit Aether, nachträgliches Eindampfen im Vakuum und Abfiltrieren der Stromata von der Lösung durch ein Kieselgurfilter). Auf Grund seiner Versuche hielt er es für naheliegend, daß der Eisengehalt des Hämoglobins als Nährstoff für die IB in Frage kommt, analog der Rolle, die Eisenverbindungen für Crenothrix polyspora spielen. Seine Versuche und diejenigen vieler anderer Autoren, einen Ersatz des Bluteisens in irgendeinem anderen Eisenpräparat zu finden, sind ergebnislos gewesen. Da deshalb bei allen Nährböden für den IB immer auf Blut als Nährbodenzusatz zurückgegriffen werden mußte, zählt der IB bisher zur Klasse der obligaten hämophilen oder hämoglobinophilen Bakterien. Auf Grund der neueren Arbeiten über den Einfluß von vitaminähnlichen Substanzen auf das Wachstum des IB scheint diese Stellung im System zurzeit zweifelhaft.

Olsen, der eine genaue geschichtliche Uebersicht bringt, hat Versuche mit Hämoglobinderivaten angestellt; es ergab sich, daß IB ohne Symbiose bei Vorhandensein von Hämoglobin, Methämoglobin und CO-Hämoglobin wachsen. Bei Anwesenheit von Hämatin und Hämin, die beide eiweißfrei, aber noch eisenhaltig sind, wuchs der IB nur in Symbiose mit andern Bakterien; das eisenfreie Hämatoporphyrin ergab dagegen weder in dem einen noch in dem andern Falle ein Wachstum der IB. Ebensowenig wirkten Hämocyanin, ein kupferhaltiges Proteid im Blute von Weinbergschnecken, Bilirubin, Chlorophyll und Pyrrol. Aus der Tatsache, daß IB auf den Levinthal-Platten weit besser wachsen, als wenn das für sich gekochte Blut dem Agar nachträglich zugesetzt wird, schließt Olsen, daß vielleicht „beim Kochen und der Koagulation des Hämoglobins Hämatin-Globin-Agarkomplexe entstehen, die besonders günstige Oberflächenwirkungen für den IB zu entfalten vermögen". Von Wichtigkeit ist seine Angabe, daß der Ausfall der quantitativen Benzidinreaktion zwischen flüssigem Levinthal-Agar und gewöhnlichem Blutagar zum Wachsutm des IB in umgekehrtem Verhältnis stand. Trotzdem schloß er auf ein weitgehendes Hand-in-Hand-gehen der Guajakreaktion und der Wachstumsmöglichkeiten des IB. Dem entsprach z. B. „. . . , daß Hämocyanin, dem respiratorische Eigenschaften zukommen, für das Wachstum der IB unwirksam war und auch keine Guajakreaktion bei Gegenwart von Peroxyden auszuüben vermag." (Kobert u. a., zit. nach Olsen.) Bei weiteren Versuchen über das O-Bedürfnis der IB stellte er fest, daß „der IB Funktionen besitzt, die festgebundenen O zu verwerten vermögen, die aber unabhängig sind von der Gegenwart des Hämoglobins". Auch er vermutet schließlich, entsprechend Pfeiffer, in der eisenhaltigen Komponente des Hämoglobins das wirksame Agens und denkt dabei an die Wirkung von Oxydasen oder katalytische Wirkungen spezifischer Natur anderer Art.

Entgegen den meisten Autoren schreibt dagegen Tokugana nicht dem Eisen, sondern dem Globin die wachstumsfördernden Eigenschaften des Blutes zu. Zu seinen Versuchen und Folgerungen ist zu bemerken, daß sie auf Grund unserer neueren Erfahrungen über das Vitaminbedürfnis der IB anders zu beurteilen sind. Soweit neue Blutnährböden beschrieben sind, haben sie gegenüber dem praktisch besten Agar, dem Levinthal-Agar, ausschließlich theoretischen Wert zur Erkenntnis der Natur und des Verhaltens der in Frage kommenden Substanzen. Zu erwähnen sind die Arbeiten von Wade und Manelang, sowie die von Fleming, die das Verhalten der im Blut vorkommenden Substanzen gegenüber chemischen und physikalischen Einflüssen studierten.

Einen erheblichen Fortschritt bedeuteten die in Amerika ausgeführten Versuche über die Vitaminwirkung auf das Wachstum von Bakterien. Thjötta und Avery berichten über die Ergebnisse:

Die Wichtigkeit akzessorischer Wachstumsstoffe für die Bakterienzüchtung wurde zuerst von Wildiers erwähnt für Hefezellen. Er nannte sein wachstumsförderndes Prinzip „Bios", und aus seiner Beschreibung geht hervor, daß dieses „Bios" ähnliche Eigenschaften aufweist, wie die seit Funk sog. Vitamine. Von Amand wurden seine Befunde bestätigt; er glaubt, daß diese Substanzen von außen in den Nährboden hineingebracht werden und nicht im Innern der Bakterienleiber entstehen. Während für einen Teil der Bakterien die Wichtigkeit der „Vitamine" wahrscheinlich gemacht ist, ist für einzelne die Notwendigkeit bewiesen, und zwar für die Meningokokken (Lloyd) und Gonokokken (Cole und Lloyd); dasselbe gilt auch für die IB. Darauf hat als erster Davis, dessen Originalarbeiten mir leider nicht zugänglich gewesen sind, hingewiesen. Er betonte, daß das Blut auch vitaminhalitg ist, und stellte Vergleiche an zwischen dem fettlöslichen Faktor A und dem wasserlöslichen Faktor B; er zeigte, daß der Vitaminbedarf der IB aus dem tierischen und pflanzlichen Gewebe gedeckt werden kann, und daß sich um Pflanzenteile in Blutagar ein üppigeres Wachstum findet, ähnlich dem Ammenwachstum. Zu seinen Versuchen verwendete er polierten und unpolierten Reis, Weizenmehl und Weizenkleie, sowie die Keimlinge von Weizen und Reis. Er bestätigte ferner die Beobachtungen von Ghon und Preyss, daß IB auf Hämatinagar bei Gegenwart von lebenden oder toten Bakterien wachsen, daß bei Hämoglobinagar eine stärkere Vermehrung der IB bei Gegenwart von lebendem oder totem pflanzlichen oder tierischen Gewebe eintritt, daß diese Gewebe aber nicht ohne die Gegenwart von Hämoglobin zu wirken vermögen. Dagegen waren nach seinen Untersuchungen O-abgebende Substanzen, wie H_2O_2, kolloidales Platin, verschiedene Salze und organische Eisenpräparate nicht fähig, das Hämoglobin zu ersetzen.

Das Verhalten der Vitamine im Blut wurde studiert von Kent, Agulhon und Legroux, Legroux und Mesnard, die flüssige Blutnährböden ver-

wendeten. Ausführliche, systematische Untersuchungen über das ganze Gebiet wurden ausgeführt von Thjötta und Avery, deren Resultate genauer wiedergegeben sein mögen.

Gelegentlich der Untersuchung von schleimbildenden Bakterien fand Thjötta, daß Bakt. Friedländer, Bac. ozaenae und ähnliche, die er nicht genauer benennt, nach Erhitzen auf 60°, in Emulsion zu Bouillon zugesetzt, Wachstum der IB ermöglichen. Das Wachstum fand vorzugsweise in der Nähe der zu Boden gesunkenen Bakterienleiber statt, war anscheinend unabhängig vom O der Luft. Kochextrakte, nachher durch Zentrifugieren von Bakterienleibern befreit, waren aber auch wirksam. Die wachstumfördernden Substanzen diffundieren demnach aus der Bakterienzelle und sind für sich wirksam. Auch Proteus-Extrakte wirkten, doch gaben die Kapselbazillen besseres Wachstum. Da die Autoren, im Anschluß an die Arbeiten von Toenniessen, in einem in den Kapseln vorkommenden Polysaccharid, Galakton, vielleicht die Ursache vermuteten, versuchten sie auch mit anderen Zuckerlösungen, zusammen mit Proteus-Extrakt, zu arbeiten, als Ersatz für das beim Proteus anscheinend in unzureichender Menge vorkommende Polysaccharid, und fanden ein gutes Wachstum der IB in Proteus-Zuckerlösungen. Bei Dextrose trat Rötung ein, die anderen Zucker blieben unverändert (Laktose, Mannit, Maltose, Saccharose, Raffinose, Inulin, Salizin). Der Proteus-Extrakt ließ sich filtrieren. Thjötta gibt in seiner ersten Arbeit zusammenfassend an, daß das Wachstum bei seinen Versuchen in der Extrabouillon besser gewesen sei als in der Blutbouillon.

Die weiteren Arbeiten von Thjötta und Avery sind eingehend referiert bei Knorr, sodaß ich auf dessen Zusammenstellung verweisen kann. Auch erübrigt sich eine genauere Begriffsbestimmung des V- s. X-Faktors, da diese allgemein in die Literatur übergegangen sind.

Bei ihren flüssigen Nährböden verwendeten die Autoren als Blutextrakte gewaschene rote Blutkörperchen, gelöst in sterilem, dest. Wasser; die Stromata wurden abzentrifugiert. Ascites und Serum gaben für sich allein kein Wachstum, jedoch erfolgte ein solches bei Zusatz von Hefeextrakt, der für sich allein auch unwirksam war. Die Autoren glauben, daß bei ihren Ascites- und Serumversuchen Spuren von Blut in den verwendeten Körperflüssigkeiten vorhanden gewesen sein müssen.

Von den untersuchten pflanzlichen Geweben war benzidinpositiv die Kartoffel; da sie außerdem vitaminhaltig ist, wenn auch sehr gering, ferner Peroxydasen und Katalasen enthält, machten Thjötta und Avery mit ihr Versuche, und es gelang ihnen, durch Zusatz von sterilen rohen Kartoffelstücken zu gewöhnlicher Bouillon Wachstum von IB in dieser zu erreichen. In synthetischen Nährböden (Uschinsky) und in einer Pufferlösung von Natrium-Kaliumphosphat konnten die Autoren nach Zusatz von steriler roher Kartoffel ebenfalls Wachstum von IB erreichen[1]). Versuche, das X durch andere Präparate zu ersetzen, z. B. durch Eisenverbindungen, blieben erfolglos. Bemerkenswert ist, daß die beiden Autoren fanden, daß auch Bananen allein ein Wachstum der IB ermöglichen, obwohl sie benzidinnegativ sind.

Damon gelangen Nachprüfungen dieser Arbeiten nicht.

Von deutschen Autoren hat sich als erster Leichtentritt mit der Wirksamkeit der Vitamine auf das Bakterienwachstum ausführlich beschäftigt. Er wies den wachstumsfördernden Einfluß des im Zitronensaft vorhandenen Vitamins auf Di-Bazillen und Staphylokokken nach. Versuche mit IB hat er nicht vorgenommen. Tinti studierte das Verhalten der Vitamine im Blut auch in Bezug auf andere hämophile Bakterien und setzte zu Blut bestimmte Vitamine hinzu. Da wir aber bisher im allgemeinen nur in ganz wenigen Fällen mit einem einzigen Vitamin arbeiten können, im Gegenteil meist mit Vitamingemischen zu arbeiten haben, ist es wohl noch als verfrüht anzusehen, wenn Tinti auf Grund seiner Versuche bestimmte Vitamine für das Wachstum verantwortlich macht. Interessant sind insbesondere seine Angaben über das wahrscheinlich verschiedene Vitaminbedürfnis der einzelnen hämophilen Bakterien, auf dem sich vielleicht eine Differentialdiagnose

1) Das gleiche Resultat läßt sich bei anderen Bakterien mit anderen vitaminhaltigen Bestandteilen erreichen, Leichtentritt konnte z. B. den Braunschen synthetischen Nährboden durch Zusatz von Zitronensaft für Di-Bazillen aktivieren.

aufbauen läßt. Neben dem Vitamingehalt des Blutes sieht er eine zweite notwendige Komponente in dem durch das Kochen im Blut entstandenen Hämatin.

Am ausführlichsten berichtet unter den deutschen Autoren Knorr über die Versuchsbedingungen des IB gelegentlich seiner vergleichenden Untersuchungen über das Verhalten des Koch-Weeks-Bazillus und des IB. Er bringt Mitteilungen über das Wesen des V- und X-Körpers, die hemmende Wirkung aktiven frischen Serums auf den V-Faktor und das Wachstum des IB und über kritische Versuche über die Wirksamkeit der Benzidinprobe. Neben einer Bestätigung der Befunde von Thjötta und Avery über die wachstumsfördernde Wirkung der Kartoffel, untersucht er das Verhalten der im Blut vorkommenden Substanzen, ohne jeden Faktor für sich getrennt zu haben, was bei dem Blut nicht möglich ist, wenn man nicht durch Erhitzung, Alkalizusatz oder ähnliche Eingriffe komplizierte Versuchsbedingungen schafft. Demgegenüber habe ich es mir zur Aufgabe gestellt, daß ich die in Frage kommenden Substanzen jede für sich getrennt, die eine (X) aus dem Blut, die andere (V) aus der Kartoffel erhalten wollte, so daß ich jede Substanz für sich untersuchen konnte, ohne die andere gleichzeitig beeinflussen zu müssen.

Auf Veranlassung des Herrn Geh. Rat Pfeiffer habe ich mich mit der Frage beschäftigt, ob es möglich ist, auf festen, blutfreien Nährböden IB-Wachstum zu erzielen.

Eigene Versuche zur Herstellung eines vitaminhaltigen Kartoffelextraktes.

Bei Vorversuchen, die sich auf die Prüfung der zu verwendenden Kartoffeln bezogen, konnte ich zunächst die Angaben von Thjötta und Avery bestätigen, daß sterile, rohe Kartoffelstückchen in Bouillon Wachstum gaben. Das Wachstum war in Traubenzuckerbouillon besser als in Placentabouillon. Die IB blieben 12 Tage lebensfähig. Versuche, durch Zufügung von Kartoffelstückchen zu NaCl-Lösung oder Ringer-Lösung Wachstum zu erhalten, blieben aber vergeblich. Die geringe Trübung konnte von dem eingebrachten Material herrühren.

Von den so als geeignet gefundenen Kartoffeln stellte ich mir Preßsäfte her durch Zerreiben der geschälten Kartoffeln und Auspressen durch sterile Tücher. Diese Säfte waren aber sowohl in Bouillon wie in Agar völlig unwirksam; sie dunkelten sehr rasch nach. Ebenso unwirksam war der Preßrückstand.

Beszonoff berichtet, daß es ihm nach dem Vorgange von B. Bertrand gelungen sei, durch Zusatz von Säuren die Wirkung der Oxydasen, die zur Zerstörung der vitaminähnlichen Substanzen führen, abzuschwächen und brauchbare Preßsäfte für den Meerschweinchenversuch zu erhalten. Die Kartoffelsäfte bleiben dann hell.

Preßsäfte, auf diese Weise behandelt, erwiesen sich für die Züchtung der IB als ungeeignet. Einerseits ließ sich der Säuregrad des Saftes nicht genau kontrollieren, da die Kartoffeln schon an sich infolge ihres Apfelsäuregehalts sauer reagieren, andererseits schien der Alkalizusatz schädlich zu sein. Ferner war die Sterilität nicht zu gewährleisten. Versuche, entsprechend den Angaben von Fleming, bei Blutnährböden, durch Zusatz von n-H_2SO_4 und nachherige Neutralisierung mit n-Natronlauge den Saft geeignet zu erhalten, scheiterten ebenfalls,

bzw. gaben ein unzureichendes Resultat. Versuche in dieser Richtung wurden deshalb aufgegeben.

Als ungeeignet erwiesen sich ferner: Preßsäfte, sofort nach der Gewinnung sterilisiert, fraktionierte Sterilisierung der Preßsäfte und Ueberschichten mit Chloroform.

Bei einigen dieser Versuche gerieten kleine Kartoffelstückchen in den Agar, und es ließ sich beobachten, daß nur über diesen Wachstum stattfand, während die Platte sonst völlig steril blieb. Ich schloß daraus, daß in den unzerstörten Zellen die gesuchten Stoffe erhalten geblieben sein mußten, während sie außerhalb der Zellen schnell zerstört wurden. Darauf aufbauend, prüfte ich die zu verwendenden Kartoffeln dadurch, daß ich sterile Scheiben in Petri-Schalen mit Agar übergoß und mit IB beimpfte. Ich fand ein sehr gutes Wachstum über diesen Scheiben. Doch war die Ausbeute an IB zu gering, als daß man dies Verfahren zur Züchtung von IB verwenden könnte. Dagegen scheint es, als ob dies Verfahren geeignet ist zum Nachweis der X- und V-Substanz in Pflanzenteilen. Geprüft habe ich folgende Früchte: überwinterte Kartoffeln, Maltakartoffeln, beide roh und gekocht, Tomaten, Bananen, Apfelsinenscheiben, Zitronenscheiben, aufgeschnittene Kerne von Apfelsinen und Zitronen: alles ergab ein gutes Wachstum von IB, am besten wirkte die Banane. Zitronensaft, dem Agar zugesetzt, war dagegen negativ, ebenso Tomatensaft. Meerrettich ergab für sich kein Wachstum, verstärkte dagegen das Wachstum in dem später zu beschreibenden Kartoffelwasser. Es enthält vielleicht nur die X-Substanz, nicht aber die V-Substanz.

Aus diesen Versuchen ging hervor: Zerstörung der Kartoffelmasse, z. B. durch Reiben, führt zu einer schnellen Zerstörung der V-Substanzen (Oxydasewirkung!). Läßt man die Zellen dagegen intakt und schneidet man die Kartoffeln klein, dann bleiben die Substanzen in der Tiefe des Materials erhalten und diffundieren in Agar. Ich kochte nun klein geschnittene Kartoffeln in Agar und goß alle 5 Min. von diesem Agar eine Platte. Auf den so hergestellten Platten trat bis zu einer Kochgrenze von 45 Min. ein, wenn auch äußerst schwaches, Wachstum der IB ein. Die IB selbst zeigten Degenerationsformen (Fäden). Folgerung: die Substanz ist, in Agar gelöst, 45 Min. kochbeständig.

Ein weiterer Versuch zeigte, daß die auf die eben angegebene Weise ausgekochten Kartoffelstücke, nach Waschen in steriler NaCl-Lösung, auch noch nach Uebergießen mit Agar, Wachstum ergaben. Die Substanz war also **innerhalb** der Zellen widerstandsfähiger als in Agar.

Nach diesen Vorversuchen, die mich von der Anwesenheit der gesuchten Substanzen in den Zellen selbst überzeugten, versuchte ich durch Plasmolyse einen brauchbaren Extrakt zu erhalten. Gefrieren und Wiederauftauenlassen erwiesen sich als ungeeignet. Ein brauchbares Lösungsmittel fand sichh schließlich im sterilen destillierten Wasser.

Herstellung des Kartoffelwassers: Frische Maltakartoffeln, die sich in der Prüfung als besonders wachstumfördernd erwiesen hatten, wurden gewaschen, ohne weitere Sterilisierung geschält und nach abermaligem Waschen in gewöhnlichem Leitungswasser auf der glatten Schnittfläche mit dem Bunsen-Brenner verkohlt. In einer sterilen Petri-Schale wurden dann diese verkohlten Kartoffeln in feine Streifen zerschnitten, um eine möglichst große Oberfläche herzustellen,

und diese Streifen wurden dann in Erlenmeyer-Kölbchen mit der etwa doppelten Menge sterilen destillierten Wassers versetzt. Zur Beseitigung etwa hineingelangter Luftkeime wurde dieser so beschickte Kolben 5 Min. im Wasserbade gekocht. Bei diesem Vorgehen konnte ich annehmen, daß einerseits völlige Sterilität gewährleistet war, was sich auch immer bestätigt hat, daß aber auch zugleich andererseits durch das kurze Kochen etwa schon in Lösung gegangene vitaminähnliche Substanzen nicht weitgehend zerstört werden konnten, und daß die innerhalb der Zellen noch vorhandenen diffundieren mußten infolge der Spannungsdifferenz zum destillierten Wasser. Meine Vermutungen haben sich bestätigt. Die Kolben sind monatelang steril zu erhalten; der Extrakt mit dem destillierten Wasser ist in den ersten Tagen schwach, später stärker wirksam, ergibt allerdings zunächst für sich kein Wachstum, sondern nur nach Zusatz einer allein für sich unwirksamen Blutmenge. Erst nach 5—6 Wochen gibt er auch für sich ein schwaches Hungerwachstum des IB. Der verwendete Extrakt kann leicht ersetzt werden dadurch, daß man die verbrauchten Mengen durch neues steriles destilliertes Wasser ersetzt. Die Kartoffeln dunkeln in den ersten Wochen nicht nach; vielleicht, weil durch das Aufkochen die dabei wirksamen Oxydasen zerstört worden sind.

Nicht alle Kartoffeln ergeben gleich gute Extrakte. Am besten scheinen gelbe, etwas seifige Kartoffeln zu sein. Der Stärkegehalt der Lösung führt nach einigen Tagen zu einer etwas stärkeren Festigkeit des Agars, doch habe ich einen hindernden Einfluß auf das Wachstum der IB nicht feststellen können. Alte Kartoffeln sind meist ungeeignet.

Wie gesagt, reichte die Lösung in der ersten Zeit nicht aus, um für sich Wachstum der IB zu geben. Daß überhaupt eine Lösung der vitaminhaltigen Stoffe eingetreten war, ließ sich nur dadurch beweisen, daß bei Zusatz einer an sich unwirksamen Blutmenge, die die X-Substanz enthielt, das Kartoffelwasser aktiviert wurde. Es war danach gelungen, die vitaminhaltigen Substanzen für sich allein in Lösung zu bringen. Die leicht saure Reaktion scheint dabei schützend zu wirken, denn auch geringer Alkalizusatz zerstört leicht die Wirksamkeit. Es ist wegen dieser sauren Reaktion ratsam, den Agar etwas alkalischer zu nehmen als für Levinthal-Platten (etwa p_H 7,4—7,6).

Das Kartoffelwasser läßt sich durch Berkefeld-Kerzen filtrieren und behält volle Wirksamkeit.

Nach zahlreichen Versuchen, aus dem Blut die wirksame X-Substanz zu isolieren, fand ich in dem Zusatz destillierten sterilen Wassers das beste Mittel. Ich hatte beobachtet, daß auf diese Weise hämolysiertes Blut in der Cond. von 1 Proz. ein ausgezeichnetes Wachstum in 2 Proz. Agar gab, wenn die Mischung 1mal kurz aufgekocht wurde. Anfangs benutzte ich zu meinen Versuchen Pferdeblut, das nur defibriniert war, also sein Serum noch behalten hatte. Dieses versagte nach 5 Wochen guter Wirkung (Aufbewahrung im Eisschrank). Daraufhin wusch ich durch 3maliges Zentrifugieren aus diesem selben Blut die roten Blutkörperchen frei von Serum und fand, daß diese, nunmehr dem Agar zugesetzt, wieder sehr gutes Wachstum ergaben. Innerhalb der Zellen waren somit die vitaminähnlichen Substanzen — und nur um diese konnte es sich handeln — unversehrt geblieben. Daraus schloß ich, daß die in Frage kommenden Stoffe intrazellulär liegen müßten, und daß sie am wenigsten beschädigt werden würden, wenn man sie

aus den Blutzellen durch destilliertes Wasser auslaugt. Zu diesem Vorgang bedarf es sonst bei der Herstellung des Levinthal-Agars des häufigeren Aufkochens! Man kam dann mit einem einmaligen kurzen Aufkochen in Agar aus und vermied die Gefahr, daß eventuell durch längeres Kochen die befreiten Stoffe zerstört würden. Um nun aber die unter Umständen schädliche Serumwirkung auszuschalten, habe ich mich später zur Herstellung des im folgenden beschriebenen Agars nur gewaschener roter Blutkörperchen bedient. Knorr hat über diese zerstörende Serumwirkung mitgeteilt, daß sie bei Aufenthalt im Brutschrank (3 Std.) das Blut ungeeignet mache zur IB-Züchtung. Einen Hinweis darüber, ob er dann aus diesem auf diese Weise unbrauchbaren Blut die Zellbestandteile durch Waschen rein gewonnen und dann diese zum Nährboden zugesetzt hat, konnte ich bei ihm nicht finden. Nach meiner oben angegebenen Erfahrung wäre ein Versuch in dieser Richtung von Interesse. Man darf doch wohl aus ihr schließen, daß nur die in das Serum bereits diffundierten Stoffe dieser zerstörenden Wirkung des Serums unterliegen, daß dieser Einfluß sich aber nicht bis in die Zellen hinein erstreckt.

Herstellung der Blutlösung: Gewaschene rote Blutkörperchen (Pferdeblut) wurden mit destilliertem Wasser hämolysiert. Die Lösung wurde austitriert und festgestellt, welche geringsten Mengen gerade noch wirksam waren. Als Grenze der Wirksamkeit betrachtete ich das Auftreten feinster, gerade noch mit schwacher Vergrößerung erkennbarer Kolonien. Die verwendete Lösung hatte einen Gehalt von 3,78 Proz. Hgbl. (nach Sahli). Ein Tropfen dieser Lösung ergab ein mit bloßem Auge gerade noch erkennbares Wachstum (0,01 ccm lieferte die kleinsten, gerade noch mit schwacher Vergrößerung erkennbaren Kolonien. Die Blutmenge wurde zu je 10 ccm Agar zugesetzt, dann 2 Min. gekocht.

Als Zusatz zu dem Kartoffelwasser verwendete ich für je 10 ccm Agar 2—3 Oesen dieser Blutlösung, eine Menge, die für sich allein nicht mehr wirksam war. Erwähnen möchte ich, daß diese Blutlösung in höheren Konzentrationen zu Agar zugesetzt, ein äußerst üppiges Wachstum des IB gab.

Herstellung des Vitaminagars: Der Agar wird aufgehoben in Röhrchen, abgemessen zu je 10 ccm. Nach dem Flüssigwerden werden 2—3 Oesen der Blutlösung zugefügt — je nach der Konzentration der Blutlösung — und 1mal kurz aufgekocht. Nach Abkühlen auf 60° werden 2 ccm Kartoffelwasser zugefügt und vermischt. Ausgießen in Petri-Schale. Die Platten können bald nach dem Erstarren beimpft werden und geben ein Wachstum ähnlich dem Levinthal-Agar. Man bedarf der ziemlich großen Menge des Kartoffelwassers, da anscheinend nur geringe Mengen der vitaminähnlichen Substanzen in ihm vorhanden sind. 2 ccm : 10 ccm Agar ergeben etwa die Koloniengröße wie Levinthal-Agar; demnach ist das Blut etwa 3—4mal so reich an vitaminähnlichen Substanzen wie das Kartoffelwasser, wenn man die Koloniengröße als Indikator für den Gehalt an wachstumsfördernden Stoffen ansehen darf.

Um möglichst entfernt liegende Kolonien zu bekommen, bin ich beim Beimpfen des Nährbodens immer von NaCl-Aufschwemmungen ausgegangen; damit vermied ich einesteils die Möglichkeit, vom Ausgangsnährboden Material auf den zu prüfenden Agar zu bringen, andernteils mußte ich aber in Kauf nehmen, daß die IB durch den

Aufenthalt in der NaCl-Lösung geschädigt werden konnten. Sie zeigten auch anfangs Degenerationsformen, bildeten aber in den späteren Generationen typische Formen. Ich habe bis zu 25 Generationen auf dem Agar gezüchtet und dann freiwillig abgebrochen. Die Lebensfähigkeit betrug 5—7 Tage. Einzelkolonien wurden oft bis zu 2—3 mm groß.

Versuche mit dem Vitaminagar: Bei der Herstellung des Agars hatte ich nicht die Absicht, den zahlreichen vorhandenen IB-Nährböden einen neuen zuzufügen, sondern in ihm einen festen Nährboden zu schaffen, der für die Züchtung der vitaminbedürftigen Bakterien und für die Methodik der Stoffwechseluntersuchungen bei Bakterien geeignet sein sollte. Zu diesem Zwecke hatte ich Wert darauf gelegt, die beiden akzessorischen Wachstumsstoffe, die X- und V-Substanz, jeden für sich getrennt zu erhalten.

Zunächst prüfte ich mit diesem Agar die Angaben von Thjötta und Avery nach, daß V und X allein für sich in Salzlösungen ausreichen, um ein Wachstum des IB zu ermöglichen. Ich konnte natürlich ohne den Agarzusatz nicht auskommen, verwendete aber im übrigen nur die gewöhnlichen Zusätze zum Agar, einzeln und in Kombination, bzw. Ringer-Lösung + Agar.

Tabelle.

Verwendete Zusätze	gew. Agar	Agar ohne Pepton	Agar nur mit Fleischwasser	Wasseragar	Aq. destill.-Agar	Wasser + Pepton-Agar	NaCl-Agar	Ringer-Agar
Pferdeblut	++	(+)	+	—	—	—	—	—
Pferdeblut + Kartoffelwasser, sog. Vitaminagar	+++	++	++	—	—	—	—	—
Kaninchenblut 5proz.	++	+	+	—	—	—	—	—
Maltakartoffel roh, übergossen	+	++	+	((+))	((+))	—	—	—
Maltakartoffel, gekocht, übergossen	((+))	((+))	—	—	—	—	—	—
Kartoffelwasser, allein	—	—	—	—	—	—	—	—

Erklärung der Zeichen: +++ = Kol. nach 24 Std. über $^1/_2$ mm groß, ++ = Kol. nach 24 Std. etwa $^1/_2$ mm groß, + = Kol. nach 24 Std. etwa $^1/_4$ mm groß, (+) = Kol. nach 24 Std. mit bloßem Auge gerade zu erkennen, ((+)) = Kol. nach 24 Std. nur mit Lupe zu erkennen.

Zunächst ergibt sich aus dieser Tabelle, daß selbst bei Anwesenheit von Agar NaCl- und Ringerlösung nicht ausreichen, um bei Gegenwart von den beiden akzessorischen Nährstoffen ein Wachstum des IB herbeizuführen. Auch Pepton allein reicht nicht aus. Da Peptonmangel bei Anwesenheit von Fleischwasser nicht wesentlich nachteilig für den IB zu sein schien, habe ich es später bei der Zubereitung des Vitaminagars ganz fortgelassen. Meine Angaben über Versuche mit diesem beziehen sich also durchweg auf Agar ohne Pepton. Dagegen geht aus der Tabelle hervor, daß Wachstum nur eintrat, wenn außer den akzessorischen Nährstoffen noch organische Substanz, entweder in Form von Fleischwasser oder Kartoffel, vorhanden war. Was den festen Nährboden

betrifft, so kann ich mich also der Angabe von Thjötta und Avery nicht anschließen, sondern muß sagen: außer den beiden akzessorischen Nährstoffen bedarf der IB noch einer dritten organischen Substanz, die wahrscheinlich als Nährsubstanz dient. Eine Bestätigung dieser meiner Ansicht sehe ich in der von Knorr angeführten Stelle von Rivers: „Es ist sehr leicht möglich, daß die wachstumsfördernden Stoffe V und X mit der Ernährung der Koch-Weeks-Bazillen und der IB nichts zu tun haben, sondern nur als Reizmittel angesprochen werden müssen."

Dieser Gegensatz in dem Wachstum auf flüssigem, synthetischem Nährboden, bei dem Thjötta und Avery eine Trübung, also Vermehrung konstatierten — ich habe oben erwähnt, daß ich dies meinerseits nicht sicher feststellen konnte — und meinen Angaben, daß selbst bei Anwesenheit von dem organischen Agar die IB nicht zu wachsen vermögen, streift grundsätzlich an die Beurteilung des Wachstums auf synthetischen Nährböden überhaupt. Nach meinen Beobachtungen glaube ich, daß diese Beobachtungen, wenigstens hinsichtlich des IB, anders zu erklären sind:

Streicht man eine Oese Kultur nach Art einer Verdünnungsplatte sorgfältig auf gewöhnlichem Agar aus, so daß die Bakterienmenge makroskopisch nicht mehr als solche sichtbar ist, dann beobachtet man bei geeignetem Nährboden echtes Wachstum, d. h. eine ausgesprochene Koloniebildung auch einzeln liegender Keime, derart, daß die am dichtesten zusammenliegenden am kleinsten, die am Rande und die einzeln liegenden am größten werden. Die Kolonien bestehen bei geeignetem Nährboden aus typisch geformten, gut färbbaren Stäbchen, und das Wachstum beruht auf der Aufnahme von körperfremder Nährbodensubstanzen.

Streicht man nun eine IB-Kultur auf einem festen Hungernährboden aus, dann sieht man häufig im ersten Anfang des Ausstriches, also an den Stellen der größten Dichtigkeit, eine deutliche Zunahme der aufgebrachten Menge. Doch lassen diese Wachstumsformen die distinkte Koloniebildung vermissen, und die Kulturen sehen mehr schleimig aus. Auf Präparaten zeigen sich noch am 1. Tag viele gut erhaltene Formen, doch nehmen sehr bald die Degenerationsformen zu, und es tritt ein Wachstumsstillstand ein. Während man meist dazu neigt, solche Stellen als „aufgebrachtes Material" anzusehen, glaube ich vielmehr, daß man es hier noch mit einer Art Vermehrung zu tun hat, die aber darauf beruht, daß die Bakterien nicht die **im Nährboden** vorhandenen Nährstoffe zum Aufbau ihres Körpers verwenden, sondern dazu die toten Bakterienleiber benutzen, die in ihrer Umgebung liegen und deren Körpersubstanz in die Umgebung diffundiert. Daher kann auf diesen Hungernährböden das Wachstum nur an den Stellen der größten Bakteriendichtigkeit auftreten und ist in der Dauer so beschränkt. Die IB benutzen dann die Körpersubstanz ihrer Artgenossen zum Aufbau, ebenso wie in einem fleischwasserhaltigen Nährboden die Stoffe des Fleischwassers. Für diese Erscheinung möchte ich, in Ermangelung eines anderen geeigneten deutschen Wortes, das Wort „Kannibalismus" vorschlagen.

Auf einem flüssigen Nährboden, und darum handelt es sich bei den Versuchen mit synthetischen Nährböden doch wohl meist, liegen die Verhältnisse nun so, daß hier nicht nur die in unmittelbarer Nähe liegenden toten Keime von ihresgleichen ausgenutzt werden, sondern

daß infolge der Flüssigkeitsströmungen und der leichteren Diffundierbarkeit alle hineingebrachten Keime von den noch lebenden Bakterien ausgenutzt werden können. Daher kann das Wachstum, namentlich wenn man eine größere Menge Material hineingebracht hat, sehr ausgesprochen erscheinen und ein falsches Bild über den Nährwert des Nährbodens geben. Interessant ist, daß bei den IB auch zu dieser Art Wachstum die Anwesenheit der akzessorischen Nährstoffe nötig ist. Aus dieser Ueberlegung folgt, daß Versuche in synthetischen Nährböden nur dann als beweiskräftig angesehen werden können, wenn man Einzellkulturen verwendet. Und so ist auch dies angebliche Wachstum auf synthetischen Nährboden bei dem IB nur ein Beweis mehr, daß die Anwesenheit der V- und X-Substanz allein nicht genügt, sondern daß noch irgendeine 3. Nährsubstanz zum Aufbau der Körpersubstanz notwendig ist, die entweder aus dem Tierreich oder dem Pflanzenreich oder auch aus den toten arteigenen Bakterienleibern genommen wird.

Für die Verwendung eines festen Agars und gegen den Gebrauch eines flüssigen Nährbodens spricht ferner auch, daß sich bei dem flüssigen Nährboden keine exakte Kontrolle über die Stärke des Wachstumseinflusses finden läßt. Die einzige Möglichkeit, durch fortlaufende Keimzählungen die wirkliche Vermehrung nachzuweisen, bringt durch das dazu nötige Umschütteln des Röhrchens veränderte Versuchsbedingungen, z. B. wenn man feststellen will, ob die IB besser am Boden als in den oberen Schichten des Nährbodens gedeihen.

Ich bin mir, wenn ich diesen Begriff des „Kannibalismus" in die Stoffwechseluntersuchungen bei Bakterien einführe, bewußt, daß ich damit Kritik übe an den üblichen Methoden der Züchtung von Bakterien in flüssigen synthetischen Nährböden. Es mögen somit einige Worte dazu gestattet sein, zu denen mich die in letzter Zeit von Davidsohn veröffentlichten Untersuchungen veranlassen. Davidsohn schreibt: „Ein flüssiger Nährboden wie Bouillon dürfte geeigneter sein. Er bietet eine bessere Möglichkeit für Zusätze von Säften und Pufferlösungen sowie für die Diffusion der Nährstoffe und der Stoffwechselprodukte, d. h. er leistet größere Gewähr dafür, daß während der Versuchsdauer die gewünschte Reaktion erhalten und das Substrat so gut wie möglich durchmischt bleibt." Er bringt auch noch andere Gründe, die nach seiner Ansicht gegen die Verwendung fester Nährböden bei diesen Untersuchungen sprechen. Demgegenüber muß ich doch an meiner Wertschätzung des festen Nährbodens gegenüber dem flüssigen festhalten aus meinen oben angeführten Gründen heraus. Die verschiedenen Versuchsergebnisse von Thjötta und Avery und mir sprechen doch auch dafür, daß sich die Resultate auf dem einen Nährboden nicht mit denen auf einem andern vergleichen lassen.

Versuche, betreffend das Wesen der X-Substanz.

Versuch I. Erhitzen von Levinthal-Agar auf 120° C $^1/_2$ Std. inaktiviert den Nährboden. Durch Zusatz von Kartoffelwasser wird der Agar wieder reaktiviert.

Versuch II. Blutlösung, in Platinschale eingedickt und verascht; die Asche wird mit sterilem dest. Wasser gelöst und diese Lösung dem Nährboden zugesetzt, zusammen mit Kartoffelwasser. Diese Blutsalzlösung ergibt keine Benzidinreaktion mehr und auch

kein Wachstum. Der schwache blaue Ring, der bei der Benzidinprobe auftritt, beruht wahrscheinlich auf der Autokatalyse der Metallsalze; denn auch ohne Säure- und Benzidinzusatz findet eine Zerlegung von H_2O_2 durch die Blutsalzlösung statt.

Versuch III. Von dem wie in Versuch II erhitzten Blut werden in den verschiedenen Hitzestadien bis zur Verkohlung 2 Oesen dem Agar zugesetzt, der nachträglich Kartoffelwasser erhält. Ein Wachstum findet sich nur noch bei der Probe, die bei Blasenbildung entnommen wurde. Verkohltes Blut war nicht mehr wachstumfördernd. Versuche mit chemisch reinem Hämatin, Hämatein und Hämoglobin. pulv. Merck fielen sämtlich negativ aus. Ebenfalls war chemisch reines Hämatoporphyrin unwirksam. Das Präparat verdanke ich Herrn Geh. Rat Pohl vom hiesigen Pharmakologischen Institut; hiermit möchte ich ihm sowohl für das Präparat wie für seine Ratschläge bei meiner Arbeit, ebenso wie seinem Assistenten Herrn Dr. Hesse für die Nachprüfungen und Beurteilungen chemischer Versuche meinen Dank aussprechen. Meinen Dank für die Beratung in physiologisch-chemischen Fragen möchte ich hier auch Herrn Prof. Schmitz am Physiologisch-chemischen Institut abstatten.

Beurteilung der vorbeschriebenen Versuche.

Nach Bürker (Tigerstedt, Handbuch der physiol. Methoden) ist die Fähigkeit des Blutfarbstoffes, O von sauerstoffreichen auf sauerstoffärmere Verbindungen zu übertragen, an die Gegenwart von Eisen geknüpft. Neben dieser sauerstoffübertragenden Wirkung besitzt das Blut eine katalytische Wirkung, die deutlich gemacht wird durch die Zerlegung von H_2O_2. Kocht man vor dem Zusatz des H_2O_2 die O-Hämoglobinlösung, so bleibt die Katalyse aus, blausäurehaltige Blutlösung hat gleichfalls die Fähigkeit zu katalysieren verloren, während die sauerstoffübertragende Wirkung des Blutes weder durch das eine noch durch das andere wesentlich beeinflußt wird. Dagegen verlieren die Hämoglobinderivate mit dem Eisen die Eigenschaft, sauerstoffübertragend zu wirken. Eine in gewisser Beziehung charakteristische Reaktion für die sauerstoffübertragende Wirkung ist die Benzidinprobe, die noch in Verdünnungen von 1 : 200000 einen positiven Ausschlag gibt, bei einer Erhitzung über 135° aber negativ wird.

Bei Berücksichtigung dieser physiologischen Tatsachen und der bisher bekannten, sowie meiner eigenen Versuche kann ich nur zu dem Schluß kommen, daß entsprechend der Ansicht von Pfeiffer die Wirkung des Blutes — i. e. in diesem Falle der X-Substanz — auf der Anwesenheit von Eisen beruht, und daß dieses nicht mehr in Form von anorganischen Verbindungen, sondern nur in bestimmten, uns noch nicht genauer bekannten organischen Verbindungen diejenige sauerstoffübertragende Wirkung entfaltet, die einerseits ebenso wie andere Substanzen die Benzidinreaktion gibt, andererseits das Wachstum des IB, wenn auch wieder unter anderen Bedingungen, ermöglicht. Jedenfalls gehen beide Vorgänge nicht parallel.

Aus der gerichtlich-medizinischen Praxis ist bekannt, daß die Benzidinprobe nicht spezifisch nur für die Anwesenheit von Blut ist; so geben Eisenvitriol, Eisenrost, Kleber, Caseïn, Milch, Eiter, Eisenchlorid und $KMnO_4$ die Benzidinprobe, die beiden letzteren bläuen ohne Zusatz von H_2O_2 (Puppe); doch sind sie nicht wachstumsfördernd für den IB, wie ich aus eigenen Versuchen mit Eisenvitriol, Eisenrost und Eisenchlorid weiß. Andererseits kennen wir in der Banane eine X-Substanz, die zwar keine Benzidinprobe gibt, aber dafür sehr wachstumfördernd auf den IB wirkt. Aus diesen Tatsachen ist zu schließen: Benzidinprobe und Wachstum von IB decken sich nicht, wenn sie auch viel Gemeinsames haben; aber das eine kann nicht als Indikator für das andere dienen. Während man im allgemeinen die Benzidinprobe für fast spezifisch für die Anwesenheit von Blut hält, kann man,

nach der obigen Uebersicht, vielleicht eher sagen: spezifischer als die Benzidinprobe ist das Wachstum des IB für die Anwesenheit von Blut. Ob sich auf Grund dieser Mutmaßung hieraus eine brauchbare Methode für einen biologischen Blutnachweis gewinnen läßt, müssen weitere Versuche ergeben. Hier möchte ich noch auf die eingehende Studie von Knorr und Gehlen verweisen, die ebenfalls zu dem Urteil kommen, daß die Benzidinprobe nicht als so feines Reagens für den Blutnachweis in Frage kommt, wie der biologische Nachweis durch das Wachstum der IB.

Ich habe ferner zur Ergänzung der Versuche über die Eisenwirkung versucht, ob sich in der Banane, die doch keine Benzidinprobe gibt, auf andere Weise die Gegenwart einer eisenhaltigen X-Substanz nachweisen läßt, und konnte in der Asche mit Rhodanammon eine deutliche Rotfärbung, also die Gegenwart von 3wertigem Eisen feststellen. Es spricht also auch dieser Versuch durchaus für die Lehre Pfeiffers von der Wichtigkeit des Eisens für das Wachstum des IB.

Meine Versuchsergebnisse stehen im Gegensatz zu den Ergebnissen von Thjötta und Avery, die bei Zusatz von Blutkohle zu Bouillon ein Wachstum des IB beobachten konnten. Zur Erklärung dieser Verschiedenheit möchte ich aber auf meine oben angeführten theoretischen Bedenken bei Verwendung von flüssigen Nährböden hinweisen und auf den „Kannibalismus".

Die jetzt anerkannte Tatsache, daß 2 Substanzen, eine vitaminähnliche und eine X-Substanz, für das Wachstum des IB als akzessorisch in Frage kommen, könnte zu der Folgerung führen, daß man infolge des gleichzeitigen Vorkommens auch in anderen Substanzen als im Blut das Wort „hämophil" für den IB durch ein anderes, umfassenderes ersetzen möchte. Wenn weitere Versuche die Vermutung bestätigen, daß in der Tat im Eisengehalt der X-Substanz das Wesentliche der Wirkung beruht, ließe sich diese Aenderung vielleicht in dem Wort „siderophil" ausdrücken. Denn von einer strengen Blutspezifität können wir nach unseren heutigen Kenntnissen nicht mehr reden.

Wenn es uns auf Grund der bisherigen Versuche in gewisser Beziehung möglich ist, das Wesen der sog. X-Substanz zu charakterisieren, gelingt uns dies mit den sog. „vitaminähnlichen Substanzen" noch nicht. Absichtlich habe ich mich nicht des Ausdrucks „Vitamin" bedient, sondern immer nur von „vitaminähnlichen Substanzen" gesprochen, denn bisher haben wir noch keine sicheren Tatsachen, auf Grund deren wir eine zweifellose Identität der im Stoffwechsel der höheren Tiere und Pflanzen einerseits, der Bakterien andererseits benötigten wachstumsfördernden Stoffe annehmen dürfen. Deshalb halte ich es hier auch noch für verfrüht, wenn ich bestimmten Vitaminen schon eine Rolle im Bakterienwachstum zuzuerkennen versuchen wollte. Daß aber gewisse Hinweise auf nahe Zusammenhänge zwischen den wachstumsfördernden Substanzen für die Bakterien und dem antiskorbutischen Vitamin bestehen, soll nicht unerwähnt bleiben. Nach den Arbeiten von Leichtentritt darf man mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß nicht nur diese nahen Zusammenhänge mit dem antiskorbutischen Faktor, sondern auch mit dem 4. Vitamin, dem sog. wachstumsfördernden Vitamin D, bestehen. Wir werden später über gemeinsame Untersuchungen in dieser Richtung berichten.

Zum Schluß möchte ich noch erwähnen, daß auf dem Vitaminagar die IB auch anaërob in der Lentz-Platte gut wachsen, wenn die Kolonien auch etwas schleimig aussehen. Demnach scheint auf diesem Nährboden

der Luftsauerstoff nicht unbedingt nötig zu sein, und man darf wohl annehmen, daß die geringe O-Quelle im Blut unter dem Einfluß der sauerstoffübertragenden Wirkung des eisenhaltigen Blutfarbstoffderivats für den IB ausreicht. Zu einer entsprechenden Vermutung kommt Knorr in seiner Arbeit.

Zusammenfassung.

1) Der Zweck meiner Versuche war, durch Verdünnung oder andere physikalische Verfahren die beiden für das Wachstum des IB erforderlichen Faktoren jede für sich leicht trennbar zu erhalten, um dann jede für sich genauer untersuchen zu können. Dies gelang beim sog. X-Faktor im Blut durch hochgradige Verdünnung, bei dem V-Faktor durch Extraktion steriler roher Kartoffelstückchen mit sterilem destillierten Wasser. Die in der Kartoffel außerdem vorhandene X-Substanz geht erst nach 5—6 Wochen in Lösung, so daß man praktisch in nicht zu alten Kartoffelextrakten mit der V-Substanz allein arbeiten kann. Es gelang, durch Zusatz dieser beiden Lösungen zu Agar, einen klaren, fast blutfreien, vitaminreichen Nährboden herzustellen, auf dem IB üppig wuchsen und sich über 25 Generationen in typischen Formen fortzüchten ließen. Zu der Agarherstellung wurde kein Pepton verwendet. Die Herstellung dieses Nährbodens ist nur als eine Bereicherung der Methodik gedacht. Für die Praxis, als Ersatz für Levinthal-Agar soll er nicht dienen, sondern nur für das Studium der Vitaminbeziehungen zu den Bakterien, speziell zu den IB.

2) Außer den beiden akzessorischen Wachstumsstoffen braucht der IB auch noch irgendeine dritte, noch nicht genauer zu definierende Substanz als Nährsubstanz. Bei größeren Bakterienmengen auf festen, sowie bei geringen Mengen auf flüssigen Nährböden kann diese dritte Substanz, wenn Fleischwasser und ähnliches fehlen — es sich also um synthetische Nährböden handelt — aus den Leibern der toten Bakterien genommen und zum Körperaufbau verwendet werden. Für diese Erscheinung wird der Ausdruck „Kannibalismus" vorgeschlagen. Infolge dieses Verhaltens sind Bakterienzüchtungsversuche in künstlichen Nährböden wohl nur dann als beweiskräftig anzusehen, wenn es sich um Einzellkulturen handelt.

3) Die von Thjötta und Avery sog. X-Substanz ist wahrscheinlich eine eisenhaltige, organische Verbindung, die einerseits in größten Mengen im Blutfarbstoff, andererseits aber auch in Früchten vorkommt. Der Ausdruck „hämophil" ist deshalb für den IB vielleicht umfassender durch „siderophil" zu ersetzen. Die Benzidinreaktion eines Körpers ist nicht unbedingt gleichbedeutend mit dem wachstumsfördernden Einfluß auf den IB.

4) Durch Uebergießen steriler Pflanzenteile mit gewöhnlichem oder geringste Blutmengen enthaltendem Agar kann man diese Teile auf die Anwesenheit von vitaminhaltigen Substanzen prüfen.

Benutzte Literatur.

Agulhon et Legroux, Compt. rend. Acad. Paris. T. 167. 1918. p. 597. — Beszonoff, ebenda. T. 173. 1921. p. 417. — Ders., ebenda. T. 173. 1921. p. 466. — Ders., ebenda. T. 175. p. 846. — Braun, Ztschr. f. allg. Physiol. Bd. 19. 1919. — Braun u. Cahn-Bronner, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 86. 1921. — Braun u. Schaeffer, Berl. klin. Woch. 1919. S. 409. — Bürker, Gewinnung, qualitative und quantitative Bestimmung des Hämoglobins. In Tigerstedt, Handb. d. physiol. Methodik. Bd. 2. Abt. I. Leipzig, Hirzel, 1910. — Cantani, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 28. 1900. — Damon, Amer. Journ. of Hyg. Vol. 3. 1923. p. 247. — Davidsohn, Bioch. Ztschr. Bd. 150. Heft 3/4. — Fleming, Lancet. 1919. p. 138. — Funk, Die Vitamine. München u. Wiesbaden, Bergmann, 1922. — Ghon u. Preyss, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 32 u. 35. — Kent, Journ. of Hyg. Vol. 22. 1923. p. 52. — Knorr, Ergebn. d. Hyg. usw. Bd. 6. 1923. — Ders., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 92. Heft 5/6. 1924. — Knorr u. Gehlen, Arch. f. Hyg. Bd. 94. Heft 3. 1924. — Legroux et Mesnard, Compt. rend. Acad. Paris. T. 170. p. 901. — Leichtentritt, Berl. klin. Woch. 1921. S. 631. — Leichtentritt u. Zielaskowski, Biochem. Ztschr. Bd. 131. 1922. S. 499. — Dies., ebenda. Bd. 131. 1922. S. 513. — Dies., Mon. f. Kinderheilk. 1923. S. 232. — Lloyd, Journ. Path. Bact. Vol. 21. 1916. p. 113. — Lloyd and Cole, ebenda. Vol. 21. 1917. p. 276. — Levinthal, Ztschr. f. Hyg. Bd. 86. 1918. S. 1. — Ders., Berl. klin. Woch. 1918. S. 712. — Levinthal, Kucszinski u. Wolff, Epidemiologie, Pathol., Morphol. u. Pathogenese der Grippe. München u. Wiesbaden, Bergmann, 1921. — Neißer, Dtsch. med. Woch. 1903. S. 462. — Olsen, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 85. 1920. — Pfeiffer, Dtsch. med. Woch. 1892. — Ders., Ztschr. f. Hyg. Bd. 13. 1892. — Puppe, Atlas u. Grundriß der gerichtl. Medizin. München, Lehmann, 1908. — Tinti, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 90. 1923. S. 401. — Toenniessen, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 76. 1915. S. 262. — Thjötta, Journ. exper. Med. Vol. 33. 1921. p. 763. — Thjötta and Avery, ebenda. 1921. p. 97. — Dies., ebenda. Vol. 34. 1921. p. 455. — Tokugana, Dtsch. med. Woch. 1920. S. 1357. — Ungermann, Ernährung und Züchtung der Mikroorganismen. In Krauss-Uhlenhuth, Handb. d. mikrobiol. Methodik. S. 731 fg. Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1923. — Wildiers, La Cellule. T. 18. 1901. p. 313.

Nachdruck verboten.

Ein Fall von akuter, tödlich verlaufender Zerebrospinalmeningitis mit eigentümlicher Pathogenese und wohl bisher unbekannter Aetiologie.

[Mitteilung vom Laboratorium des „Frederiksberg-Hospital" (Kopenhagen).]

Von **M. Claudius,** Kopenhagen.

Mit 2 Tafeln.

Ein 50jähriger Landarbeiter wurde auf der Landstraße von einem Automobil überfahren; er war danach einige Minuten bewußtlos. Nachdem er aber in der Ambulanz zum Frederiksberg-Hospital gebracht worden war, konnte er seinen Namen angeben, obgleich er etwas verwirrt war. Nachdem er 4 Tage lang in der chirurgischen Abteilung gelegen hatte, wurde er in die Nervenabteilung übergeführt, da er in zunehmendem Grade unruhig und unklar wurde und sich die Symptome einer Meningitis entwickelten. Die Krankengeschichte nach dem Journal kann wegen Raummangels nicht mitgeteilt werden, desgleichen die Einzelheiten der Sektion, deren Ergebnis war:

Außer verschiedenen Hautabschürfungen ist vorgefunden worden Schädelbruch mit Beschädigung des Gehirnes, hervorgerufen durch stumpfe Gewalt. Der Tod

ist verursacht durch eine Gehirnhautentzündung, welche infolge des Schädelbruches entstanden ist. Ferner sind bei der Obduktion vorgefunden worden eine Bronchitis und eine beginnende Lungenentzündung, welche während des Hospitalsaufenthaltes entstanden sind. Im übrigen aber keine Zeichen von Krankheit bei dem Verstorbenen.

Am Tage, bevor der Patient starb, war Lumbalpunktion vorgenommen worden, wodurch ca. 5 ccm purulenter Spinalflüssigkeit ausgeleert wurden; diese war gelblich, von Konsistenz wie ziemlich dicker Eiter. Der Eiter wurde sofort im Laboratorium in Arbeit genommen. Es wurde in Bouillon geimpft und zur Erzielung isolierter Kolonien schräger Agar und Serum mit der Menge Eiter begossen, die sich in einer Platinöse befand, die annähernd 1 ctgr. Wasser faßte. Die Kulturgläser wurden bei 38° in den Thermostat gestellt.

Weiter wurden Objektglaspräparate hergestellt. Nach Fixierung in der Flamme wurden sie mit wässeriger Methylenblaulösung gefärbt und mit Wasser gespült. Es fanden sich zahllose Eiterzellen, doch war es mir nicht möglich, zweifellose Mikroben nachzuweisen; jedenfalls waren keine mikrobenähnlichen Bildungen zu sehen, die ebenso kräftig gefärbt waren, wie die Kerne der Eiterzellen, geschweige denn stärker gefärbt. Am nächsten Tage war indessen starker Wuchs in allen geimpften Gläsern. Die Bouillon war stark diffus unklar, auf der Oberfläche des Agars sah man zahllose, ganz gleichartige Kolonien wie Tautropfen mit opalartigem, bläulichem Schein, und auf der Oberfläche des Serums fanden sich ebenfalls zahllose Kolonien mit üppigerem Wuchs.

Präparate von Kolonien auf dem Agar wurden nach Gram gefärbt und mit Safranin nachgefärbt. Ich fand hierin zahllose, zum Teil sehr lange Stäbchen, und zwar gerade und gebogene und wie Fäden aufgerollte, außerdem Kokkobazillen in langen Ketten, ganz runde Kokken und Diplokokken, teils lanceolate, wie Pneumokokken, teils wie Meningo- oder Gonokokken; alle Formen waren gramnegativ, aber das Bild war so bunt, daß man annehmen mußte, eine Bakterienmischung vor sich zu haben. Da sich indessen dasselbe Bild in Präparaten von einer ganzen Reihe anderer Kolonien auf dem Agar zeigte, war ersichtlich, daß es sich um einen außergewöhnlich polymorphen Mikroben in Reinkultur handelte. In Präparaten von Bouillon und in Serum fanden sich dagegen nur Diplokokkenformen, die auch alle gramnegativ waren.

Von dem Eiter, der sofort in den Eisschrank gestellt worden war, wurden nun neue Präparate gemacht, welche nach Leishman gefärbt wurden, worauf es gelang, Diplokokken und Kokkobazillen mit Polfärbung und einzelnen Stäbchen nachzuweisen, doch waren diese alle erstaunlich schwach gefärbt, und oft nur mit ganz schwachen Konturen.

Nun wurden 2 Meerschweinchen mit je $^1/_2$ ccm der Bouillonkultur subkutan auf den Femur geimpft. Naeh 24 Std. waren die Tiere schwer krank; das eine starb nach 3, das andere nach $3^1/_2$ Tagen. Bei der Sektion fanden sich gräuliche, seröse, teilweise nekrotische Infiltrationen an den Injektionsstellen, diffuse Peritonitis mit dickem, gräulichem Eiter, sowie Empyema pleurae et pericardii. Das eine Herz war so mit Eiter bedeckt, daß es einem kleinen Schneeball ähnelte, Zeichen von Pneumonie waren nicht vorhanden, die Milz war nicht deutlich vergrößert, und Hämorrhagien an den Organen oder Leiden im Darmkanal fehlten. — Vom Herzblute wurde in Bouillon geimpft und von dieser Mischung wurde zur Erzielung isolierter Kolonien Schräg-

agar begossen. Vom Herzblute wurden Objektglaspräparate gemacht, welche nach Leishman gefärbt wurden. In diesen fanden sich zahllose Mikroben, die ziemlich deutlich gefärbt und teils nicht von Diplokokken zu unterscheiden waren, teils aber ovale Bazillen mit deutlicher Polfärbung, aber keine Stäbchen. In Bouillon starkes Wachstum und auf dem Agar fanden sich nach 24 Std. bei 38° zahllose, ganz gleichmäßige Kolonien von Mikroben von demselben polymorphen Charakter, welchen die Kultur direkt vom Eiter gezeigt hatte.

Es war nun klar, daß diese Mikroben entweder Pestbazillen sein mußten, oder eine diesen nahestehenden Form aus der Hühnercholera- und Schweineseuchegruppe, welche auch als Pasteurella oder Bacterium septicaemiae haemorrhagicae animalium bezeichnet wird.

Nähere Untersuchung ergab folgendes:

1) Die ovalen Formen, welche im Blute häufig sind, sind ca. 1 μ lang und $^1/_3$—$^1/_2\,\mu$ breit, die Kugelformen kleiner, die Fadenformen aber können von kolossaler Länge sein. Charakteristisch für die ovalen Formen im Blute ist die deutliche Polfärbung bei Färbung mit wässeriger Methylviolett- oder Methylenblaulösung. Die langen Formen färben sich äußerst unregelmäßig, so daß sie oft Schlangen mit Zick-Zackbändern oder Flecken ähneln, andere kürzere Stäbe färben sich diffus und ziemlich kräftig. — 2) Der Mikrob ist gramnegativ und färbt sich ebenfalls nicht nach der von mir zur isolierten Färbung von Mikroorganismen angegebenen Methode. — 3) Er ist unbeweglich, und 4) wächst sowohl aërob wie anaërob. — Temperaturoptimum scheint 36—38° zu sein; bei 43—45° hört das Wachstum auf; er wächst gut, wenn auch langsam, bei Stubentemperatur. — 5) Im Eiter aus dem Peritoneum einer Ratte besaß er deutliche Kapseln. — 6) Die Kolonien sind auf der Agaroberfläche rund, von sehr verschiedener Größe, gewölbt und gräulich opaleszierend; ist ihre Zahl groß, so bleiben sie auf Agar und Gelatine andauernd klein, auf Serum können sie zusammenfließen; ist ihre Zahl gering, so können sie bedeutende Größe erreichen und bekommen dann auf Agar eine dunklere, gelbbraune, verdickte und granulierte Mittelpartie und eine flache, bisweilen zackige Randzone. Ich habe nie wahrgenommen, daß die Kulturen eine zähe, schleimige Konsistenz bekamen, wie es für die Pasteurella-Gruppe als charakteristisch angegeben wird. — 7) Die Bakterie ist auf Agar und Gelatine so polymorph, daß sie in allen Formen auftritt, außer als Spirillen. — 8) Auf erstarrtem Serum tritt sie mehr als Diplococcus oder ovaler Bazillus auf; auf diesem Substrat scheint sie am üppigsten zu wachsen. — 9) In normaler Meningealflüssigkeit wächst sie wie auf Serum. — 10) In Bouillon verhält sich der Mikrobe verschieden, je nach der Wasserstoffionenkonzentration. In Bouillon, welcher kein Alkali zugesetzt war, und welche pH = 5,5 hatte, wuchs sie nicht, desgleichen bei pH = 6,5. Wird so viel Natronhydrat zugesetzt, daß pH = 7—7,5 ist, so wächst sie gut. Bei pH = 8 findet sich bereits nach 24 Std. bei 37° üppiges Wachstum, das erkennbar ist durch diffuse Unklarheit und das zu Bodensinken ziemlich großer Flocken; man sieht nur Diplokokken und Kokkobazillen ohne Pol-Polfärbung nebst kurzen Ketten. Bei pH = 9 zeigt sich guter Wuchs bei diffuser Unklarheit und grober Fadenbildung, die sich von der Oberfläche nach dem Boden des Glases hin erstreckt; der Faden be-

steht aus Stäbchen (Stäbchenketten?) von scheinbar unbegrenzter Länge, welche ein dichtes Flechtwerk bilden. Bei pH = 10 tritt nur schwacher Wuchs, eine leichte, diffuse Unklarheit, keine Fadenbildung und kein Niederschlag auf, bei pH = 12 zeigt sich aber kein Wachstum. — 11) Die frischeste Milch, die ich habe beschaffen können, hat pH = 6—6,5 gehabt, worin aber der Mikrob nicht wuchs. — 12) Sein Verhältnis gegenüber Zuckerarten wurde in 2proz. Lösungen in Bouillon von pH = 8 untersucht. In keiner dieser Proben fand aber irgendwelche Gasentwicklung statt.

Hinsichtlich der Säurebildung sind die Resultate folgende: Die Proben wurden untersucht, nachdem sie 2 Tage im Thermostat gestanden hatten, und die Gläser waren immer mit derselben Menge von 24 Std. alter Bouillonkultur geimpft:

Maltose	**÷ Säure**
Arabinose	**÷ Säure**
Rhamnose	**÷ Säure**
Xylose	**+ Säure; P_H war nun 5,5**
Dextrose	**+ Säure; P_H war nun 5.5**
Saccharose	**+ Säure; P_H war nun 5**
Laktose	**Spur von Säure; P_H war nun 7—7,5**
Dulzit	**÷ Säure:**
Mannit	**+ Säure; $P_H = 6-6,5$**
Lävulose	**+ Säure; $P_H = 6$**
Galaktose	**+ Säure; $P_H = 5,5$.**

Das Verhältnis des Mikroben gegenüber diesen 4 letzten Zuckerarten ist ganz identisch mit dem, welches die „Indische Pestkommission" als charakteristisch für Bact. pestis anführt.

Die Versuche mit den Zuckerarten wurden mehrere Male mit verschiedenen Kulturen des Mikroben von verschiedenen Tieren wiederholt, und zwar mit ganz gleichen Resultaten.

Zu bemerken ist, daß bei diesen Versuchen ein Säuregrad auftreten kann, der größer ist als derejnige, welcher das Wachstum des Mikroben in gewöhnlicher Bouillon hindert. Vielleicht erklärt sich dies daraus, daß der Mikrob ein Enzym absondert, das seine Tätigkeit fortsetzt, wenn er sich nicht mehr vermehren kann. — 13) Er bildet Indol aus Pepton, jedoch nur in geringerem Grade; es kann erst nach Zusatz von Nitrit nachgewiesen werden. — 14) Außer den bereits erwähnten Formen, unter denen der Mikrob auftreten kann, findet man in älteren Kulturen auf Gelatine und Agar ausgesprochene Involutionsformen, was besonders zutage tritt 15) bei der Züchtung auf Salzagar. — 16) Gelatine bringt er nicht zum Schmelzen. — 17) Er wurde nicht agglutiniert von einem Pestserum, welches „Statens Seruminstitut" mir überlassen hatte. Das Institut teilte gleichzeitig mit, daß das Pasteur-Institut, wo die Technik hinsichtlich der Pestdiagnose wohl im höchsten Grade entwickelt ist, und wo die Erfahrungen diesbezüglich am größten sind, im Gegensatz zu den deutschen Forschern, der Agglutinierungsprobe keine entscheidende Bedeutung beimaß, sondern größeres Gewicht auf die Resultate der kutanen Infektion legte. — 18) Nach Filtrierung von 4 Tage alten Bouillonkulturen durch Chamberland-Filter und subkutaner Injektion von 2 ccm des Filtrats an Meerschweinchen konnte in der Lösung kein Toxin nachgewiesen werden. — 19) Eine Virulenzvermehrung bei fortgesetzter Passage durch dieselbe Tierform habe ich nicht nach-

weisen können. — 20) Die Pathogenität ist verschiedenen Tieren gegenüber untersucht worden: Für Kaninchen ist der Mikrob äußerst pathogen; diese sterben nach subkutaner Infektion im Laufe weniger Tage. Auf gleiche Weise infiziert (mit $^1/_2$ ccm 24 Std. alter Bouillonkultur), starben Meerschweinchen nach 2—3—4 Tagen. Das Sektionsbild hat das früher beschriebene Aussehen; am meisten ins Auge fällt aber die ausgesprochene Empyembildung in den serösen Kavitäten. Wo die Empyembildung besonders stark war, war das Blut so arm an Leukokozyten, daß fast keine solchen in den Blutpräparaten nachgewiesen werden konnten.

Von 16 infizierten Meerschweinchen überlebte nur 1 die Infektion; es wurde erst mit einer ganz geringen Menge Bouillonkultur geimpft, und zeigte sich später immun gegenüber der gewöhnlichen Dosis; Serum von diesem Tier agglutinierte die Mikroben nicht.

2 Tauben wurden intramuskulär in den Brustmuskeln und intraperitoneal geimpft; diese reagierten nicht im geringsten hierauf. Ebenso verhielten sich Hühner.

Prof. Oluf Bang impfte in der landwirtschaftlichen Hochschule 2 Ferkel mit 1 ccm Bouillonkultur subkutan und intravenös; die Tiere blieben aber vollständig gesund. Mäuse sind außerordentlich empfänglich für die Ansteckung und sterben nach Verlauf von 2—3—4 Tagen.

4 Ratten wurden subkutan an der Schwanzwurzel mit einer Kultur von Herzblut einer Maus geimpft, ohne daß sie irgendwelche Krankheiten aufwiesen (sie wurden 2 Monate beobachtet).

Dagegen starben 3 Ratten, welche intraperitoneal mit weniger als $^1/_{10}$ ccm derselben Kultur geimpft wurden, alle im Laufe von 6—8 Std.; bei der Sektion zeigte sich das Herzblut ganz überschwemmt von Mikroben (ovale Form mit deutlicher Polfärbung) und die Mikroben im Peritonealexsudat hatten eine deutliche Kapsel. Auch in einer Kultur von Herzblut dieser Ratten zeigte der Mikrob sich bei subkutaner Impfung nicht pathogen für Ratten.

Nach den Resultaten der Untersuchungen gehört der Mikrob demnach zu der Gruppe der sogen. hämorrhagischen Septikämie und der Pestbakterie.

Er ähnelt der Pestbakterie im Aussehen, welches die Kolonien oft auf Agar bekommen, durch ihre ausgesprochene Polymorphie und Involutionsformbildung, durch Fadenbildungen in Bouillon bestimmter Reaktion, durch sein Verhalten zu den Zuckerarten (das Verhalten gegenüber der Laktose scheint besonders bemerkenswert) sowie durch seine Avirulenz gegenüber Hühnern, Tauben und Schweinen. In diesen Punkten unterscheidet er sich von den bekanntesten Vertretern der Pasteurella-Gruppe. Auf der andern Seite ähnelt er der letzteren durch die Affinität zu den serösen Höhlen mit folgender Empyembildung, durch seine Avirulenz für Ratten bei subkutaner Impfung und dadurch, daß er Indol bildet.

Wie erwähnt, mißt man im Institut Pasteur der kutanen Infektion von Meerschweinchen eine entscheidende Bedeutung bei hinsichtlich der Frage: Pest oder keine Pest. Ich versuchte daher diese Infektionsform an 2 Meerschweinchen; nachdem diese auf einem ungefähr talergroßen Stücke der Bauchhaut rasiert worden waren, wurde diese Stelle mit etwas Eiter (eine Oese voll) vom Peritoneum eines eben gestorbenen, subkutan infizierten Meerschweinchen eingerieben.

Das eine Tier starb bereits nach Verlauf von 2 Tagen. Die Sektion zeigte das gewöhnliche Bild, und auch im Blute fand sich der Mikrob reichlich. Die Bauchwand bot nichts deutlich Abnormes. Das andere Tier wies keine Krankheitszeichen auf. Es ist also nicht möglich gewesen, den Mikroben mit Sicherheit unter eine der 2 Bakteriengruppen einzureihen, denen es am meisten ähnelt. Es scheint mir daher die Ansicht berechtigt, daß es ein Zwischenglied ist, welches die 2 Gruppen miteinander verbindet.

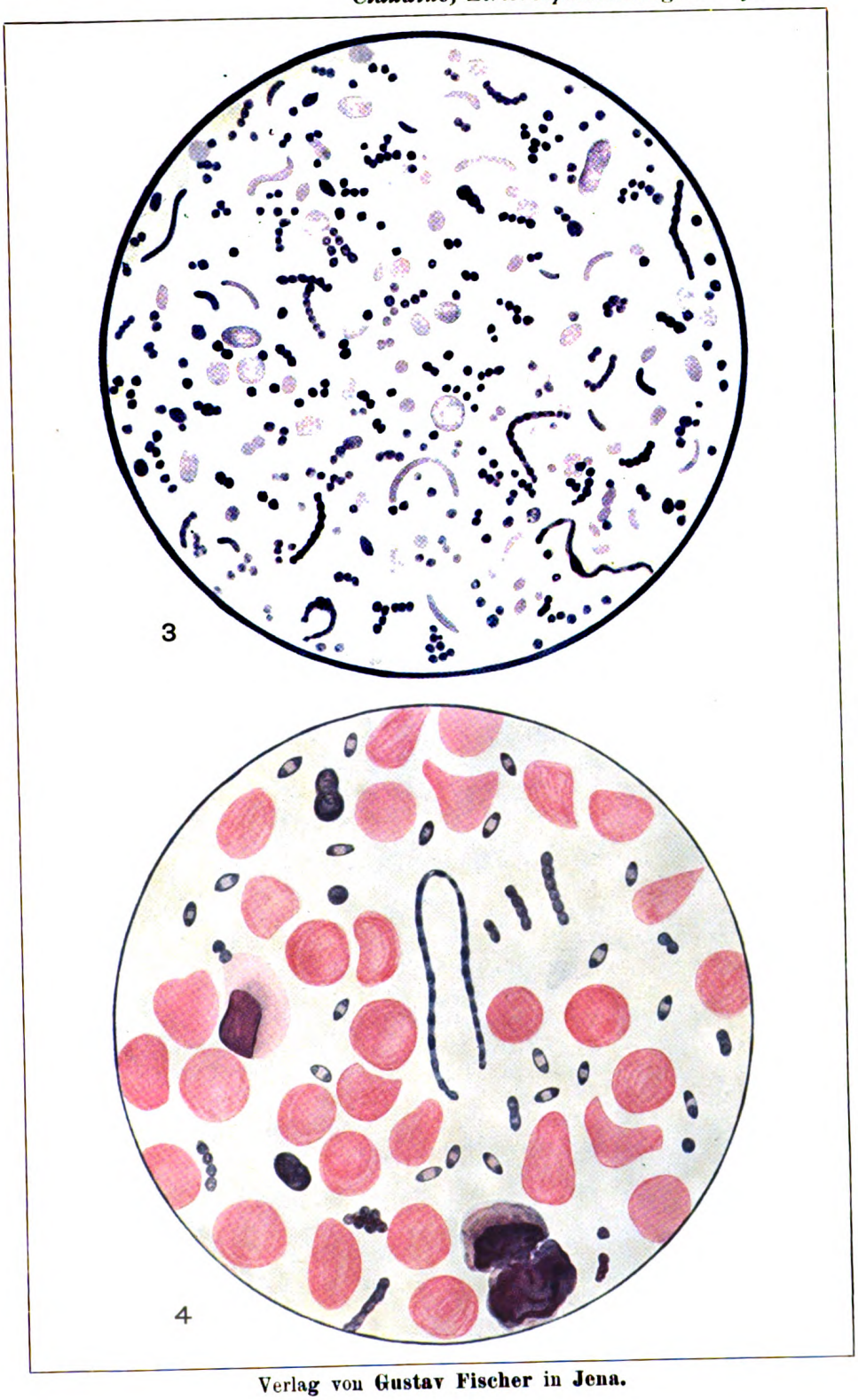
Es liegt nun nahe, zu fragen, ob Fälle bekannt sind, wo Mikroben aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie pathogen für den Menschen gewesen sind. In den Handbüchern wird angegeben, daß Fleisch von Tieren, welche an Hühnercholera und Schweineseuche gestarben sind, gastrointestinale Störungen hervorrufen konnte, wenn dieses bei der Zubereitung nicht genügend erhitzt worden war, und im „Centralblatt für Bakteriologie" für 1916 findet sich eine ausführliche Mitteilung darüber, daß ein russischer Kriegsgefangener in einem ungarischen Gefangenenlager sich eine paratyphusartige Krankheit zugezogen hatte, indem er Geflügel gegessen hatte, welches an Hühnercholera zugrunde gegangen war. Das Interessante an diesem Falle ist, daß es gelungen ist, im Darminhalt des Pat. ovale, polgefärbte Bazillen nachzuweisen, welche stark pathogen für Hühner und Tauben waren, also Hühnercholerabazillen, und in seinem Blute die entsprechenden Antistoffe: Die Krankheit endete mit vollkommener Heilung nach Verlauf einer Woche.

Leicht nachzuweisen ist, wie unser Patient infiziert worden ist. Der einzige direkte Zutritt zu seiner Schädelhöhle war dort, wo das Siebbein abgelöst worden war, und an dieser Stelle ist die Infektion erfolgt. Der Mikrob war in seinen Siebbeinzellen vorhanden und ist hochvirulent gewesen, da er gegen den Strom von Meningealflüssigkeit und Blut, der aus seiner Nase floß, in das Cavum cranii eingedrungen ist und den Pat. danach durch starke suppurative Meningitis getötet hat; ein vollkommen gesundes Individium im kräftigsten Alter im Laufe weniger Tage!

Darüber, wie der Mikrob in den Pat. gekommen ist, kann ich keine Auskunft geben. Pat. ist die ganze Zeit bis zum Unglücksfalle vollständig gesund gewesen, und an den Stellen, wo er das letzte Jahr gedient hatte, hat keine Krankheit bei Federvieh oder den vierbeinigen Tieren geherrscht.

Es ist möglich, daß man diesen Mikroben nicht öfter als Krankheitsursache bei Menschen finden wird, aber muß man seine Aufmerksamkeit auf denselben zu richten, wenn man Meningealeiter, Eiter von Peritonitiden, speziell den vom Appendix ausgehenden, oder überhaupt Eiter von den serösen Höhlen und den Nebenhöhlen der Nase untersucht. Ist man nicht auf seine Existenz eingestellt, so würde er z. B. wenn er sich zusammen mit Coli-Bazillen im Peritoneum fände, sicher verborgen bleiben, oder von den Coli-Bazillen überwuchert werden.

Wie schon erwähnt, halte ich die Vermutung für berechtigt, daß der Mikrob eine früher nicht beschriebene Form ist; in diesem Falle muß er auch eine besondere Benennung haben, und da mir seine ganz außerordentliche Polymorphie die charakteristische Eigenschaft zu sein scheint, möchte ich den Namen: Bacterium polymorphum für denselben vorschlagen.



Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Erklärung der Tafelabbildungen.

Tafel I.

Fig. 1: Kultur auf Agar, pH = 8, Färbung mit Methylviolett.
Fig. 2: Kultur in Bouillon, pH = 9, Färbung mit Methylviolett.

Tafel II.

Fig. 3: Kultur auf Salzagar, pH = 8. Zahlreiche Involutionsformen. Färbung mit Methylviolett.
Fig. 4: Herzblut von einer Maus, gestorben 2 Tage nach der Infektion. Leishman-Färbung. Ausgesprochene Polymorphie des Mikroben.

Nachdruck verboten.

Milzbrand-Pseudobakteriophagen[1]).

[Aus dem Hygien. Institut der Universität Köln (Prof. Dr. Reiner Müller).]

Von Privatdozent Dr. **Karl L. Pesch.**

Mit 1 Tafel.

In einer Zeit, in der die Bakteriophagen im Vordergrunde des Interesses stehen, dürfte es zweckmäßig sein, über eine Beobachtung zu berichten, die auf den ersten Blick als Bakteriophagenwirkung erscheinen konnte, jedoch bei näherer Untersuchung eine andere Erklärung fand.

Unter alten Sammlungskulturen fiel mir ein Schrägagarröhrchen auf, dessen Photographie im durchfallenden Lichte Bild 1 in natürlicher Größe zeigt. Es ist ein alter, als „Milzbrand-Laboratoriumsstamm, apathogen" bezeichneter Stamm, der am 24. 10. 1921 in dieses Röhrchen überimpft worden war; die Kultur war also zur Zeit der photographischen Aufnahme etwa 2 Jahre alt. Die Herkunft des seit mindestens 10 Jahren fortgezüchteten Stammes ist nicht bekannt. Wie das Bild zeigt, wies der Bakterienrasen viele verschieden große, scharf umschriebene, runde „Löcher" auf, die viel durchsichtiger waren als die übrige opake Strichkultur. Der erste Gedanke war natürlich, daß diese Flecken vielleicht „Tâches vièrges" im Sinne d'Herelles seien, daß also Bakteriophagenwirkung vorläge.

Um diese Frage zu klären, überimpfte ich sowohl von der Mitte als auch vom Rande mehrerer Flecken, aber auch vom unveränderten Bakterienrasen auf Agarnährböden und spatelte sorgfältig aus. Nach 24 Std. Brutschrankaufenthalt hatten wir in allen Petri-Schalen üppiges Wachstum eines dichten Bazillenrasens; auf einer Reihe von Platten, besonders auf denen, die mit Material vom Rande der Flecken beimpft waren, zeigten sich an einzelnen Stellen deutliche Aufhellungen (Bild 2). Impfte ich sowohl von diesen helleren als auch von den opaken Stellen erneut ab, so zeigte es sich, daß ein Gemisch zweier verschiedener Kolonientypen vorlag, die sich zunächst in betreff ihrer Durchsichtigkeit unterschieden. Säte ich so dünn aus, daß von beiden Sorten Einzelkolonien wuchsen, so zeigten sich nicht nur Unterschiede in der Durchsichtigkeit, sondern auch in der Kolonienform (Bild 3). Die hellen Kolonien zeigten die gewöhnliche schön gelockte Milzbrandform, während die undurchsichtigen Kolonien mehr rund waren, „krauskopfähnlich" nach Gerhard Wagner.

1) Nach einem am 30. 7. 1924 in der Medizinisch-wissenschaftlichen Gesellschaft an der Universität Köln gehaltenen Vortrage.

Daß die Verschiedenheit der beiden Kolonienformen nicht als Verunreinigung der Milzbrandreinkultur durch eine andere Bazillenart zu erklären ist, bewies nicht nur die mikroskopische Untersuchung, sondern auch die Präzipitationsprüfung und das Vorkommen der gleichen Erscheinung in anderen Milzbrandkulturen, woranf ich noch zurückkommen werde. Es handelt sich also wohl um Variation eines Milzbrandstammes, so daß also die eine Form aus der anderen entstanden ist. Letzteres konnte ich durch weitere Versuche bestätigen. Impfte ich von einer isolierten, 1-tägigen opaken Krauskopfkolonie auf neue Nährböden ab, so waren am nächsten Tage nur ebensolche opake Kolonien gewachsen. Ließ ich nun diese Kolonien noch einige Tage im Brutschrank stehen, wobei ich sie vor Austrocknung schützte, so beobachtete ich auf einer Reihe von Platten, wie vom Rande des opaken Bakterienrasens an einzelnen wenigen Stellen ganz helle, durchsichtige Ausläufer ausgeschickt wurden. Es war also von der undurchsichtigen Ausgangsform eine durchsichtige Variante abgespalten worden. Impfte ich nun vom Rande dieses zarten Ausläufers auf neue Nährböden ab, so erhielt ich zunächst nur glasig-durchsichtige Kolonien. Hielt ich aber diese Kulturen längere Zeit bei 37°, so bildeten sich in diesen durchsichtigen Kolonien undurchsichtige Knöpfe. Impfte ich nun von diesen Knöpfen wieder ab, so erhielt ich in der neuen Generation ein Gemisch von durchsichtigen und undurchsichtigen Stellen; also ein Bild, wie wir es in der 2. Abbildung schon kennen gelernt haben. Die untersuchte Milzbrandkultur ist also ein Stamm, der sich durch eine erhebliche Variabilitätsneigung, Abspaltung von durchsichtigen Varianten aus undurchsichtiger Form und umgekehrt, auszeichnet. Mikroskopisch zeigten die beiden Varianten keine nennenswerten Unterschiede in Bazillenform und Sporenbildung. Auch gelang es mir in zahlreichen Versuchen nicht, aus diesem apathogenem Stamm eine für Mäuse virulente Variante abzuspalten. Im Präzipitationsversuch erhielt ich mit den Extrakten beider Varianten eine Trübung stets bis zur gleichen Serumverdünnung. Jedoch in ihrer Vermehrungsfähigkeit unterschieden sich beide Varianten recht deutlich voneinander, indem die hellere Form durch eine stärkere Vermehrung imstande war, die opaken Kolonien zu verdrängen; denn in denjenigen Kulturen, wo, wie in Bild 2, beide Formen in einem dichten Bakterienrasen nebeneinander auftraten, konnte ich stets eine Verbreiterung der hellen und ein Zurückweichen der opaken Stellen beobachten. In einzelnen Fällen, wo nur ganz wenige opake Flecken in einem hellen Bakterienrasen enthalten waren, konnten diese nach einigen Tagen ganz verschwunden sein.

Ich stelle mir das Auftreten der lochähnlichen Flecken der in Bild 1 gezeigten Schrägagarkultur so vor, daß nach Anlage der Kultur sich zunächst einmal ein gleichmäßiger undurchsichtiger Bakterienrasen gebildet hat, in dem dann im Laufe der Zeit eine durchsichtige Variante abgespalten wurde, welche sich stärker vermehrte und die undurchsichtige Ausgangsform verdrängte; wir haben also in diesen runden, lochähnlichen Flecken gewissermaßen Kolonien der durchsichtigen Variante im undurchsichtigen Untergrund des Kulturrasens der Krauskopfform vor uns.

Glaube ich nun, den Nachweis geführt zu haben, daß es sich bei dieser merkwürdigen Aufhellungserscheinung nicht um eine Bakteriophagenwirkung, sondern um ein Variationsphänomen handelt, so führe ich doch noch einige Gründe an, die eine Bakteriophagenwirkung aus-

zuschließen erlauben; denn man hat ja spontanes Auftreten von Bakteriophagen in alten Laboratoriums-Schrägagarkulturen verschiedentlich beschrieben:

1) Bei Abimpfung von den beschriebenen Flecken blieb die neu angelegte Kultur niemals ohne Wachstum, wie wir es sonst sehen, wenn wir von wirklichen „Tâches vièrges" abimpften; im Gegenteil war stets sehr gutes Wachstum festzustellen. —

2) Nie habe ich Flatterformen gefunden; es ist nicht angängig, die „Krauskopfkolonien" als Gildemeistersche Flatterformen zu bezeichnen.

3) Auch die Auflösungserscheinungen in Bouillonkulturen konnte ich nicht auslösen. Schwemmte ich eine mit zahlreichen aufgehellten Flocken durchsetzte Agarplatte mit Kochsalzlösung ab, filtrierte sie durch Filterkerzen und beschickte mit verschiedenen Mengen des keimfreien Filtrates frische Milzbrandbouillonkulturen, so erzielte ich nie irgendeine Beeinflussung des Wachstums im Vergleich zu Kulturen ohne Filtratzusatz. Ich gebe aber zu, daß dies die Abwesenheit von lytischem Virus nicht völlig sicher macht, da man an die Bildung lysoresistenter Stämme denken muß. —

4) Auch gegenüber verschiedenen Stämmen der Typhus-Ruhr-Gruppe war das Filtrat völlig unwirksam. Es trat weder eine Aufhellung der Bouillonkulturen ein, noch waren auf ausgespatelten Agarplatten Tâches vièrges zu sehen. Da die meisten beobachteten Bakteriophagenstämme mehrere Bakterienarten angreifen, darunter Ruhrbakterien mit Vorliebe, sprechen diese meine negativen Befunde mit dafür, daß die lochähnlichen Aufhellungen des Bildes 1 nicht auf Bakteriophagen zurückzuführen sind.

Es ist nun noch die Frage zu beantworten, ob die beschriebenen Variationen nicht nur bei dem untersuchten avirulenten Stamm, sondern auch bei anderen, und zwar virulenten Milzbrandstämmen vorkommen. Es stand mir eine Reihe pathogener Milzbrandkulturen (die Stämme Köln, Berlin und Ibs) in etwa auch 2 Jahre alten Schrägagarröhrchen zur Verfügung. Bild 4 zeigt, daß wir in der Tat auch hier etwas Aehnliches sehen, jedoch sind die Aufhellungen bei diesen 3 Stämmen nicht so groß und so regelmäßig umrandet, wie bei dem apathogenen Milzbrandstamm und machen deshalb nicht so sehr den Eindruck der Tâches vièrges. Daß jedoch bei diesen Stämmen der gleiche Variationsvorgang für die Aufhellungen verantwortlich zu machen ist, konnte ich durch Abimpfung von allen diesen Röhrchen feststellen. Auch hier gelang die Herauszüchtung einer opaken und einer durchsichtigen Variante. Abimpfung von einer durchsichtigen Kolonie ergab eine Reinkultur der gleichen Art, die schon am 2.—3. Tage reichliche Knopfbildung zeigte (Bild 5) (im Gegensatz zu dem apathogenen Milzbrandstamm, wo diese Knopfbildung längst nicht so ausgesprochen war und auch erst nach etwa 8 Tagen einsetzte). Impfte ich von den Knöpfen weiter ab, so erhielt ich wieder eine Mischung der beiden Varianten (Bild 6), wo im Verlauf der nächsten Tage dann die hellere Form sich auf Kosten der undurchsichtigen Stellen vermehrte und diese langsam zurückdrängte. Im Prinzip also das gleiche Bild bei diesen virulenten Stämmen, wie bei der avirulenten Milzbrandkultur, ein buntes Spiel verschiedener auseinander entstandener und sich bekämpfender Variationsformen.

Ich will hier nicht die ganze Literatur über Milzbrandvarianten anführen. Nur auf die Arbeiten von Preiß sei hingewiesen, der aus Milzbrandvakzins 5 und aus Bouillonkulturen nach längeren Passagen bei

42,5° 4 Varianten herauszüchtete. Auch Arbeiten von Eisenberg dürfen hier nicht unerwähnt bleiben, der eine sporogene, kreideweiße, undurchsichtige und eine asporogene, graugelbe, mit der Zeit transparente Milzbrandvariante beschreibt. Baerthlein konnte in seinen Milzbrandaussaaten 2 Koloniensorten unterscheiden: große, helle, durchscheinende, zerfließende und kleinere, saftige, trübgelblich-weiße Formen. Gerhard Wagner züchtete unmittelbar aus dem Blute einer ganz frischen Milzbrandleiche (Gerber Ibs) 2 in ihrem Kolonienbau (gutgelockte und krauskopf-ähnliche Kolonien) und auch in ihrer mikroskopischen Bazillenform deutlich verschiedene Milzbrandvarianten. Wagners Bilder sind meinen beiden Kolonientypen (Bild 3) sehr ähnlich. Es dürfte also der gleiche Variationsvorgang, den ich auf künstlichen Nährböden fand, bei dem Wagnerschen sehr pathogenen Stamme im erkrankten Menschen vor sich gegangen sein.

Bürgers und Bachmann haben sich bei ihren Bakteriophagen-Studien auch mit dem Auftreten des d'Herelleschen Phänomens bei Milzbrandbazillen befaßt. Sie versuchten, Auflösungserscheinungen bei künstlich gramnegativ gemachten Milzbrandkulturen zu erzielen, doch gelangten sie nicht zu einem abschließenden Ergebnis. Da sie ihrer Arbeit keine Abbildungen beigegeben haben, weiß ich nicht, ob die von ihnen beobachteten Lochbildungen auf ähnlichen Variationsvorgängen beruhen, wie meine Milzbrandpseudobakteriophagen. Sie schrieben daß in ihrer 1. Versuchsreihe die Lochbildung einen „Hauch von Bakterienwachstum" gezeigt habe; auch gelang ihnen die Fortführung der Auflösungserscheinung nur 2mal. In der 2. Versuchsreihe war ein Loch „fast steril"; die 2. Passage war noch wirksam, die 3. Passage schon zweifelhaft. Auch der Nachweis von lytischem Virus im Peritonealexsudat eines mit Milzbrand infizierten Meerschweinchens gelang nur sehr bedingt. Daß die von B. u. B. in den atypischen Kolonien beschriebenen kleinen Löcher mit den Aufhellungen meiner Bilder 4 und 5 identisch sind, ist mir sehr wahrscheinlich. Ich betone, daß diese Forscher in der Deutung der von ihnen beobachteten Erscheinungen als Bakteriophagen-Wirkung selbst sehr vorsichtig sind.

Auf alle Fälle glaube ich, gezeigt zu haben, daß wir nicht alle in Bakterienkulturen auftretenden Aufhellungen ohne weiteres als „Wirkung des d'Herelleschen Bakteriophagum intestinale" ansprechen dürfen.

Literatur.

Bürgers u. Bachmann, Ztschr. f. Hyg. Bd. 101. 1924. S. 350. — Baerthlein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 54. S. 182. — Eisenberg, P., ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 63. 1912. S. 305. — Preisz, H., ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 58. 1911. S. 510. — Wagner, ebenda. Abt. I. Orig. Bd. 84. 1920. S. 386.

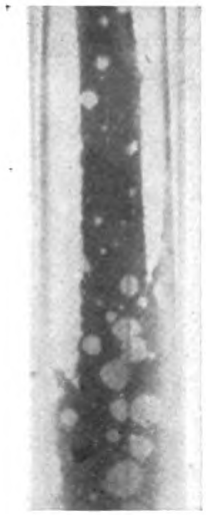
Nachdruck verboten.

Zur Bedeutung der Haut bei Infektions- und Immunitätserscheinungen.

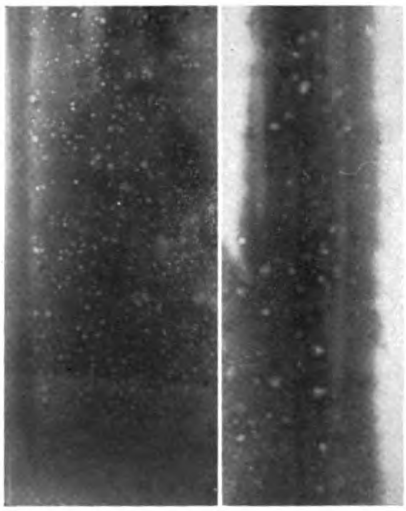
[Aus dem Staatsinstitut für experimentelle Medizin Leningrad (Abteilung von Prof. Wladimiroff).]

Von **O. Hartoch** in Gemeinschaft mit **K. Muratowa, W. Joffe** und **W. Berman.**

Das große Interesse, das neuerdings von theoretischer und klinischer Seite der Bedeutung der Haut auf dem Gebiete von Infektion und

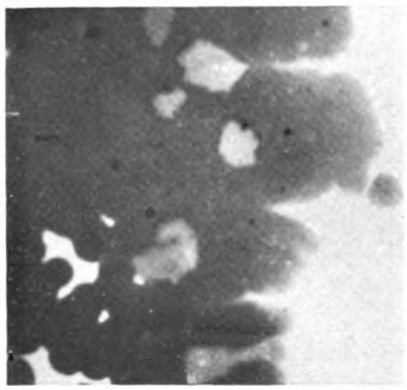


1

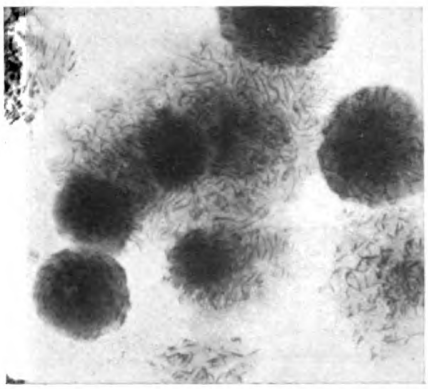


a *b* *c*

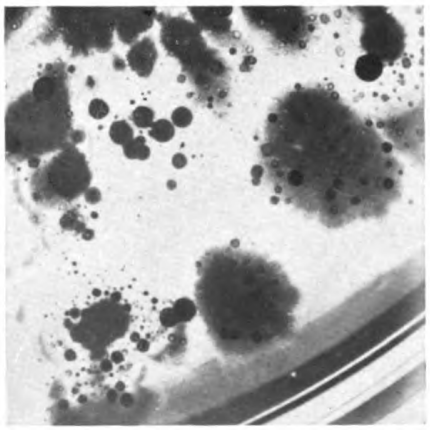
4



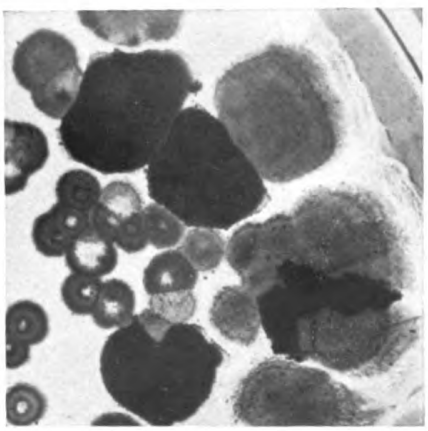
2



3



5



6

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Immunität erwiesen wird, kommt deutlich zum Ausdruck in den zahlreichen Arbeiten, die in den letzten Jahren dieser Frage gewidmet sind.

Wenn aber trotz erheblicher, auf diesem Gebiete geleisteter Arbeit die von verschiedener Seite gezogenen Schlußfolgerungen und Deutungen in fast diametral entgegengesetzter Richtung sich bewegen, so ist wohl anzunehmen, daß von der Lösung des Problems noch kaum die Rede sein kann. Erst ein weiteres zielbewußtes Anhäufen von experimentellem Material wird am ehesten angetan sein, der theoretischen Deutung des Problems Vorschub zu leisten und die Bedeutung des Hautorgans auf dem Gebiete von Infektion und Immunität klarzustellen.

Die von uns erhobenen Befunde, über die an dieser Stelle zu berichten wäre, beanspruchen demgemäß auch keineswegs mehr, als dem bisherigen Tatsachenmaterial sich anzugliedern und die experimentelle Grundlage des Problems zu erweitern.

In Berücksichtigung der Aktualität der Frage und der zahlreichen erst jüngst erschienenen Arbeiten erübrigt es sich, auf die Literatur der Frage hier näher einzugehen.

Die Fragen, die wir durch das Experiment zu beantworten suchten, waren folgende: 1. In welcher Weise reagiert die Haut auf perkutane Applikation von heterologem Eiweiß? 2. In welcher Beziehung steht die Hautallergie zu den auf verschiedene Art durchgeführten Sensibilisierungen und 3. In welcher Beziehung steht die intrakutane Einführung von virulenten Mikroben zu den üblichen parenteralen Applikationsarten sowohl im Sinne des Infektionsverlaufes, als auch im Sinne von Immunitätserscheinungen.

Zur Klarstellung der 1. Frage wurden folgende Versuchsserien angelegt:

Tabelle I.

Versuchstiere	Vorbehandlung auf der rechten Flanke.	Nach 2 Wochen Allergieprüfung auf der vorbehandelten rechten Seite. Pferdeserum intrakut. 0,1 ccm, Verdünnung 1:1, 1:10, 1:100, 1:1600.	Nach 2 Wochen Allergieprüfung auf der unvorbehandelten linker Seite. Pferdeserum intrakut. 0,1 ccm, Verdünnung 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000.
Kaninchen Nr. 1	Perkutane Serumapplikation (Pferdeserum) bis 8mal eingerieben	++	±
„ „ 2	dgl.	++	±
„ „ 8	„	++	±
„ „ 33	„	++	±
„ „ 3 Kontrolle	unvorbehandelt	—	○
Kaninchen Nr. 4 Kontrolle	„	—	○
Kaninchen Nr. 31 Kontrolle	vorbehandelt wie Kaninchen Nr. 1	statt Pferdeserum Meerschweinchenserum ○	statt Pferdeserum Meerschweinchenserum ○

Zeichenerklärung: ++ starke Reaktion, ± schwach angedeutete Reaktion.

Eine Reihe von Kaninchen (Tab. I.) wurde nach schonend durchgeführter Epilierung an beiden Flanken, auf der einen Seite mit perkutanen Serumeinreibungen vorbehandelt. Bei solchen Friktionen, die bis 8mal mit eintägigen Intervallen durchgeführt wurden, wurde jeweilig 3 ccm Pferdeserum verrieben. Nach erfolgter Salbung wurde die eingeriebene Stelle mit warmem Wasser gründlich abgewaschen und zur Hautschonung mit Glyzerin nachbehandelt. Zwischen Beginn der Epilierung und der Salbenbehandlung[1]) wurden stets einige Tage Ruhepause eingeschaltet, damit die Haut sich vollständig erholen konnte. Nach Verlauf von 2 Wochen (gerechnet von der letzten Salbung) wurde mit dem homologen Serum in verschiedenen Konzentrationen intrakutiert, sowohl auf der vorbehandelten Seite, wie auf der freien.

Das Resultat dieser Versuchsserie ist in Tabellenform zusammengestellt (Tab. I, S. 529).

Wie aus der Tabelle ersichtlich, reagierten Kaninchen Nr. 1, 2, 8 und 33 auf die intrakutane Einführung von Pferdeserum auf der gesalbten Seite recht stark und auf der unvorbehandelten Seite mit einer schwach angedeuteten Reaktion. Die unvorbehandelten Kontrollen Nr. 3 und 4 reagierten negativ. Ebenso reagierte Kaninchen Nr. 31, das analog den Versuchstieren vorbehandelt war, aber statt mit dem homologen Pferdeserum, mit Meerschweinchenserum intrakutan geprüft wurde. Die in der Tabelle vermerkten Resultate sind das summarische Ergebnis der mit verschiedenen Serumverdünnungen ($^1/_1$, $^1/_{10}$, $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$) während der ersten 3 Tage vermerkten Einzelaufzeichnungen. Ergänzend sei hinzugefügt, daß bereits 2—3 Std. nach erfolgter Intrakutierung die vorbehandelte Seite durch ausgebreitete Rötung und Temperatursteigerung mit deutlich werdenden Infiltrationen an den Injektionsstellen sich stark von der unvorbehandelten Seite unterscheidet, bei der eine diffuse Rötung nur schwach angedeutet ist.

Tabelle II.

Versuchstiere	Vorbehandlung auf der rechten Flanke	Nach 2 Monaten Allergieprüfung auf der vorbehandelten rechten Seite. Pferdeserum intrakutan 0,1 ccm, Verdünnung 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000.	Nach 2 Monaten Allergieprüfung auf der unvorbehandeltrn linken Seite. Pferdeserum intrakutan 0,1 ccm, Verdünnungen 1:1, 1 10 1:100, 1:1000.
Kaninchen Nr. 9	Perkutane Serumapplikation (Pferdeserum) bis 6 Einreibungen	++	+
„ „ 10	dgl.	++	+
„ „ 11	„	++	+
„ „ 12	„	+	+
„ „ 13	„	+	+
„ „ 61	„	++	+
„ „ 5 Kontrolle	unvorbehandelt	—	○
Kaninchen Nr. 7 Kontrolle	„	—	○

1) Serumeinreibungen der Kürze wegen als Salbungen bezeichnet, obwohl ohne Constituens.

Eine 2. Versuchsserie wurde dahin abgeändert, daß die Inkubationszeit zwischen letzter Salbung und Intrakutierung auf 2 Monate ausgedehnt wurde. Das Resultat dieser Serie ist in Tab. II (S. 530) zusammengestellt.

Wie daraus hervorgeht, reagierten nunmehr die Versuchstiere, die im übrigen in analoger Weise vorbehandelt waren, wie bei der 1. Serie und in gleicher Weise intrakutiert wurden, mit ausgesprochener Reaktion sowohl auf der vorbehandelten Seite, als auch auf der Kontrollseite. Bei 4 Tieren Nr. 9, 10, 11, 61 war der Intensitätsgrad ein verschiedener, und zwar zu Gunsten der vorbehandelten Seite, bei 2 Tieren, Nr. 12 und Nr. 13, war hingegen ein wesentlicher Unterschied nicht festzustellen. Auch in dieser Serie reagierten die Kontrollkaninchen negativ. Die an Kaninchen erhaltenen Resultate wurden an 4 Kollegen, die sich als Versuchsobjekte zur Verfügung stellten, kontrolliert.

Dr. O. H. und Dr. W. B. erhielten am linken Vorderarm 6 bzw. 12 Einreibungen von Pferdeserum mit 1 bis 3tätigem Intervall und wurden 2 Wochen nach der letzten Einreibung intrakutan mit Pferdeserum in den Verdünnungen $^1/_1$, $^1/_{10}$, $^1/_{100}$, $^1/_{1000}$ sowohl auf der vorbehandelten Seite als auf dem unvorbehandelten Arme auf allergische Umstimmung geprüft.

Dr. W. J. erhielt 3 Einreibungen, die mit kurzfristigem Intervall durchgeführt wurden, dann folgte eine Pause von 2 Monaten, worauf wieder Einreibungen erfolgten. 11 Tage nach der letzten Einreibung folgte die intrakutane Probe mit analogen Verdünnungen.

Dr. S. K. diente als Kontrolle.

Das Versuchsergebnis ist in Tab. III zusammengestellt.

Tabelle III.

Versuchsobjekte	Vorbehandlung	Allergieprüfung 2 Wochen nach letzter Einreibung auf der linken vorbehandelten Seite. Pferdeserum intrakut. 0,1 ccm. Verd. 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000	Allergieprüfung 2 Wochen nach letzter Einreibung auf der rechten unvorbehandelten Seite. Pferdeserum intrakut. 0,1 ccm. Verd. 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000
Dr. O. H.	6 Pferdeserumeinreibungen mit 1—3täg. Intervall am linken Unterarm	+++	++
Dr. W. B.	12 Pferdeserumeinreibungen mit 1—3täg. Intervall am linken Unterarm	++	○
Dr. W. J.	3 Pferdeserumeinreibungen am linken Unterarm, dann 2 Monate Pause. Neuerdings 4 Einreibungen an gleicher Stelle	+	++
Dr. S. K.	Unvorbehandelt	—	○

Zur Deutung sowohl dieser Versuchsserie als auch der vorhergehenden werden wir im II. Teil der Arbeit zurückkommen. Es sei nur hier gleich darauf hingewiesen, daß es sich bei Dr. O. H. um einen Fall handelt, der vor ca. 27 Jahren mit Pferdeserum anläßlich einer

Diphtherie vorbehandelt war, bei den 3 übrigen Fällen hingegen um Personen, die nie mit Serum gespritzt waren.

Die 2. in Angriff genommene Frage behandelte das Problem der Hautallergie in Abhängigkeit von der Verteilung des Sensibilisinogens im Körper. Die Versuchsanordnung, die auf solche Frage Antwort geben sollte, bestand in der verschiedenen Art, wie das Antigen eingeführt wurde.

Als Versuchstiere dienten für gewöhnlich Kaninchen und nur in 1 Versuchsserie Meerschweinchen.

Das Antigen wurde teils intravenös in die Ohrvene des Kaninchens bzw. in die vena jugularis des Meerschweinchens, teils intraarteriell in die A. carotis bzw. die art. femoralis eingeführt. Nach Ablauf der entsprechenden Inkubationszeit wurde die Hautallergie durch intrakutane Impfung mit dem homologen Antigen geprüft.

Als Antigen kamen in Betracht ein Paratyphusstamm B Nr. 16 und ein Typhusstamm.

Zwecks Verallgemeinerung der beobachteten Befunde wurde noch ein Versuch angeschlossen, bei dem die örtlichen Allergieerscheinungen durch intrakutane Toxinimpfungen nach vorheriger Antitoxinin applikation (Diphtherietoxin und Antitoxin) beobachtet werden konnten.

Die intraarterielle Einführung erfolgte sowohl mit nachfolgender Unterbindung der Arterie als auch ohne Unterbrechung der Zirkulation im entsprechenden Gefäßbezirk. Im letzteren Falle hat man nach Anlegung einer entsprechenden Arterienklemme zentralwärts vom Nadeleingang nur Sorge zu tragen, daß der Stichkanal möglichst spitzwinklig zur Arterienwand angelegt wird und daß die Manipulation schonend für die Gefäßwand vorgenommen wird. Bei lege artis durchgeführter Injektion muß man sich durch vorheriges vorsichtiges Lüften der Arterienklemme davon überzeugen, daß der Stichkanal kein Blut durchsickern läßt.

Das Versuchsergebnis ist in Tab. IV und V zusammengestellt.

Tabelle IV.

Kaninchen	Die sensibilisierende Injektion mit lebender Paratyphus B-Kultur erfolgte in subletaler Dosis in die	Die nach 2 Wochen erfolgte Allergieprüfung erfolgte durch intrakutane (0,1 ccm) Einführung der homologen Kultur am		
		Kopf	Rücken	rechtem Bein
Nr. 3	Ohrvene	±	++	+
„ 2	Art. carot.	+	○	○
„ 24	„ „	+	○	−
„ 23	„ femoral. dextra	○	±	++

Der erste Eindruck dieser Befunde dürfte wohl als innerer Widerspruch erscheinen, denn in einem Falle reagieren die intrakarotal geimpfen Tierte positiv in der von der Karotis versorgten Hautpartie und negativ (oder schwächer positiv) an der übrigen Hautoberfläche, im anderen Falle hätten wir das direkt umgekehrte Verhältnis.

Dieser widerspruchsvolle Befund ist aber dem Wesen nach keineswegs als Widerspruch zu deuten.

Versteifen wir uns nicht auf die Identifizierung der Hautallergie mit dem Begriff der erhöhten Reaktionsfähigkeit, ziehen wir in Betracht, daß die anaphylaktische Reaktion ein Spezialfall des Immunitätsphänomens ist, und daß der Ausschlag nach der positiven oder

Tabelle V.

Versuchstier	Die sensibilisierende Injektion mit lebender Typhuskultur erfolgte in subletaler Dosis in die	Die nach 2 Wochen erfolgte Allergieprüfung erfolgte durch intrakutane Einführung (0,1 ccm) der homologen Kultur am	
		Kopf	Rücken
Meerschweinchen Nr. 1	Art. carot.	○	+
Meerschweinchen Nr. 2	„ carot.	○	+
Kaninchen Nr. 57	„ carot.	+	++
Kaninchen Nr. 59	Ohrvene	+	+

	Intraarterielle Injektion von Diphtherieantitoxin in die		Nach 24 Std. intrakutane Einspritzung von Diphtherietoxin am							
			Kopf in Verdünnungen				Rücken in Verdünnungen			
			1:20	1:50	1:100	1:500	1:20	1:50	1:100	1:500
Kaninchen Nr. 34	Art. carot.	Resultat: nach 24 Std.	○	○	○	○	+++	++	+	○
		„ 48 „	+	○	○	○	+++	+++	+	+

negativen Reaktionsweise in ursächlichem Zusammenhang steht mit der quantitativen Seite der bei der Reaktion beteiligten Ingredienten, mit der Inkubationsdauer, der biologischen Reaktionsweise des Versuchstieres, mit der spezifischen Eigentümlichkeit des Antigens usw., so werden wir bei Betrachtung der Tabelle unser Hauptaugenmerk nicht den qualitativen Unterschieden zuwenden, die an verschiedenen Hautbezirken zum Vorschein kommen, sondern im Wesentlichen die quantitative Seite berücksichtigen. Zu einer Zeit, wo man gegen das Fieber einerseits mit Antipyreticis vorgeht und andererseits es ruhig sich auswirken läßt, da man in Zweifel ist, ob man mit Eisbeutel oder Wärmflasche an den entzündlichen Herd herangeht, wo man über die Ursachen von erhöhter und herabgesetzter Reaktionsart bei der Allergie noch keineswegs sich schlüssig ist, kann uns die Frage, weshalb es beim Paratyphus B zur positiven Reaktion im Bereiche der Kopfhaut kommt, und beim Typhus zur negativen, nur in 2. Linie interessieren. Für unsere Fragestellung ist es vielmehr wichtig, zu vermerken, daß bei Einführung des Antigens intrakarotal bzw. intrafemoral die entsprechenden, von der Arterie versorgten Hautgebiete bei Einhaltung gewisser quantitativer und zeitlicher Verhältnisse anders reagieren als die übrige Hautoberfläche.

Diese Stellungnahme scheint uns umsomehr berechtigt, als selbst auf einem Gebiet, wo wir für gewöhnlich nur einseitig gerichtete Reaktionen erwarten, wie z. B. bei Einwirkung von Antitoxin auf das entsprechende Toxin, — es Mengenverhältnisse gibt, die, wie Friedberger gezeigt, entgegengesetzte Wirkung haben können.

Ergänzend sei das Versuchsergebnis wiedergegeben, das erzielt

wurde bei intrakarotaler Einführung von Diphtherie-Antitoxin mit nachfolgender intrakutaner Toxinimpfung in verschiedenen Verdünnungen und an verschiedenen Hautpartien ausgeführt (Tab. V, unterer Teil).

Auch hier ergab der Versuch analoge Verhältnisse, insofern als die von der Art. carotis versorgte Hautpartie ganz wesentlich anders reagiert, als die übrige Hautoberfläche.

Die 3. Frage über die prophylaktische Rolle, die der Haut bei der Infektion zukommt, und ihre Beziehungen zu Immunität wurde in folgenden Versuchsanordnungen studiert: Nach Auswertung der Virulenz (Tab. VI) eines Paratyphus B-Stammes (Typus Schottmüller) Nr. 16 konnten wir die einfach letale Dosis (Dosis certe letalis) bei intraperitonealer Injektion für Meerschweinchen gleich $^1/_{5000}$ Schrägagarkultur festsetzen.

Es fragte sich, in welcher Wechselbeziehung diese durch intraperitoneale Einverleibung festgestellte Dosis letalis zur intrakutanen Applikationsart steht. Zu diesem Zwecke wurden einer Meerschweinchenserie steigende Mengen der obigen Kultur intrakutan (subepidermal) in dem Volum v. 0,1 ccm verimpft (Tab. VI).

Tabelle VI.

Versuchtier	Intraperitoneale Impfung mit Paratyphus B, Kultur Nr. 16	Resultat	Versuchstier	Intrakutane Impfung mit Paratyphus B Nr. 16 in 0,1 ccm Vol.	Agglutinationstitr nach 14 Tagen	Prüfung auf Immunität 3 Woch. nach Intrakutanvorbehandl. durch intraperiton. Reinfektion mit homolog. Stamm	Resultat
Meerschweinchen	Schrägagarkultur		Meerschweinchen	Schrägagarkultur		Schrägagarkultur	
Nr. 1	1 : 10	$\dagger_1$	Nr. 50	1 : 1000	—	—	bleibt leben
„ 2	1 : 100	$\dagger_1$	„ 47	1 : 1000	—	—	„ „
„ 3	1 : 1000	$\dagger_3$	„ 48	1 : 1000	—	—	„ „
„ 4	1 : 1000	$\dagger_1$	„ 20	1 : 1000	1 : 300	1 : 500	„ „
„ 5	1 : 5000	$\dagger_1$	„ 41	1 : 1000	1 : 300	1 : 100	„ „
„ 6	1 : 5000	$\dagger_1$	„ 42	1 : 1000	1 : 300	1 : 100	„ „
„ 7	1 : 10 000	$\dagger_3$	„ 43	1 : 1000	1 : 300	1 : 100	„ „
„ 8	1 : 10 000	bleibt leben	„ 19	1 : 100	1 : 500	1 : 200	„ „
			„ 24	1 : 20	1 : 200	1 : 100	„ „
			„ 38	1 : 20	1 : 1000	1 : 50	„ „
			„ 39	1 : 20	1 : 500	1 : 50	„ „
			„ 40	1 : 20	1 : 500	1 : 50	„ „

Wie das Versuchsergebnis zeigt, vertragen die intrakutan gespritzten Tiere bis $^1/_{20}$ Schrägagarkultur (250 (!) letale Dosen) der Paratyphuskultur, ohne mit schweren Allgemeinsymptomen zu reagieren. Die intrakutane Impfung mit noch größeren Dosen ist wegen begrenzten Tierbestandes unterblieben, so daß die Dosis letalis für intrakutane Applikationsart nicht ermittelt werden konnte. Bei dem tatsächlich erzielten Quotienten, kleiner als $^1/_{250}$, spielt letzterer Umstand für die prinzipielle Beurteilung der Frage wohl kaum eine Rolle. Im

Gegensatz zu den fehlenden oder ganz in den Hintergrund tretenden Allgemeinerscheinungen bei den intrakutan gespritzten Tieren, reagierten sie mit heftigen Lokalerscheinungen, deren Intensität mit steigender Dosis parallel ging. Die Lokalerscheinungen, die von mäßigen entzündlichen Infiltrationen bis eitrig-nekrotisierenden Reaktionen varriierten, heilten im weiteren Verlaufe ab und beeinflußten, wie schon erwähnt, das Allgemeinbefinden kaum.

Die Einschaltung einer Stichprobe mit subkutaner Applikationsart bestätigte, daß auch in diesem Falle ein Fünfundzwanzigstel der intrakutan vertragenen Dosis des Paratyphusstammes das Versuchstier tötet.

Es dürfte somit als festgestellt betrachtet werden, daß ein stark virulenter Paratyphusstamm, der die Kontrollen bei intraperitonealer Impfung in der Dosis von $^1/_{5000}$ Schrägagarkultur prompt tötet und, wie die Stichprobe beweist, auch bei subkutaner Injektion sich als stark virulent erweist, bei subepidermaler Applikation selbst in 250facher letaler Dose keine tödliche Allgemeininfektion bedingt.

Dieses auffällige Verhalten veranlaßte uns, bei den intrakutan geimpften Tieren sowohl die Antikörperbildung zu verfolgen, als auch durch nachfolgende intraperitoneale Reinfektion die Immunitätsverhältnisse zu studieren.

Die Antikörperbildung, gemessen an dem Agglutinationstiter, ist in Tab. VI veranschaulicht. Es erhellt daraus, daß die Agglutininbildung bei den intrakutan geimpften Meerschweinchen nach ca. 2 Wochen eine beträchtliche Höhe erreicht, speziell in Berücksichtigung der sonst üblichen trägen Reaktionsfähigkeit dieser Tierspezies. In der gleichen Tab. VI sind die Resultate zusammengestellt, die die Immunitätsverhältnisse bei den intrakutan geimpften Meerschweinchen wiedergeben. Die Versuchsergebnisse, die das Auftreten einer stark ausgesprochenen Allgemeinimmunität bei den intrakutan vorgespritzten Tieren erweisen und die da zeigen, daß eine nach ca. 3 Wochen durchgeführte intraperitoneale Reinfektion mit 100facher letalen Dosis anstandslos vertragen wird, beanspruchen besondere Beachtung.

Das besondere Interesse dieses Versuchsergebnisses ist, wie uns scheint, gegeben in der Wechselbeziehung zweier Tatsachen, deren innerer Kausalkonnex zwar nicht vollinhaltlich erwiesen ist, aber immerhin sehr viel Wahrscheinlichkeit für sich hat. Die obigen 2 Tatsachen sind: die Sonderstellung der intrakutanen Infektion mit vollvirulentem Material (verglichen mit der subkutanen und intraperitonealen Infektion) und der hohe Grad von Allgemeinimmunität der nach intrakutaner, ohne schwere Allgemeinerscheinungen verlaufender Impfung sich einstellt.

Bevor wir an die Resümierung unserer Versuchsergebnisse gehen, sei noch über eine Versuchsserie berichtet, deren Ergebnis im Zusammenhang mit den soeben angedeuteten Wechselbeziehungen unbedingte Beachtung verdient.

Es handelt sich um die Heranziehung zu analogen Versuchen eines avirulenten Paratyphus B-Stammes, der durch 2jährige Züchtung des obigen Paratyphus B-Stammes Nr. 16 auf Hungermedien von Hartoch und Muratowa erhalten wurde. Die Virulenz dieses Stammes, der biochemisch, serologisch und im agglutinogenen Verhalten mit dem Ausgangsstamm fast völlig übereinstimmte, erwies sich praktisch genommen gleich Null. Selbst $^1/_{10}$ Schrägagarkultur (zur Virulenzprüfung wurde sets die 1. Passage auf gewöhnlichem Agar benutzt und nicht direkte

Abschwemmung vom Hungernährboden) wurde bei intraperitonealer Impfung ohne merkliche Krankheitssymptome glatt vertragen. Die Virulenz war somit um mehr als das 500fache gefallen.

Bei intrakutaner Prüfung dieses Stammes, einschließlich des Studiums der Agglutininbildung und der sich einstellenden Immunitätsverhältnisse wurden Ergebnisse gezeitigt, die in Tab. VII zusammengestellt sind.

Tabelle VII.

Meerschweinchen	Intrakutane Vorbehandlung mit avirulentem Paratyphusstamm (Hungerstamm) Nr. 16	Agglutinationstiter am Ende der 2. Woche	Reinfektion ip. mit virulentem Paratyphus B-Stamm Nr. 16 (1 let. Dos. 1:5000 Schrägagarkultur)	Resultat
Nr. 45	1:1000 Schrägagarkultur	1:100 ±	1:500 = 10 let. Dos. Schrägagarkultur	$\dagger_1$
„ 46	1:20 Schrägagarkultur	1:500 +	1:100 = 50 let. Dos. Schrägagarkultur	bleibt leben
„ 21	1:20 Schrägagarkultur	1:500 +	1:50 = 100 let. Dos. Schrägagarkultur	„ „
„ 12	1:20 Schrägagarkultur	1:500 +	1:50 = 100 let. Dos. Schrägagarkultur	„ „

Das Versuchsergebnis dürfte folgendermaßen zusammengefaßt werden:

Bei Intrakutanimpfung mit einem „avirulenten" Paratyphus B Stamm waren die Lokalerscheinungen schwächer ausgeprägt, als bei entsprechenden Impfungen mit virulenter Kultur.

Die mit avirulenter Kultur intrakutierten Tiere weisen, sofern eine entsprechende Dosis gewählt worden war, beträchtliche Agglutinintiter auf und dokumentieren nach Ablauf von einer 3wöchentlichen Frist einen hohen Grad von Immunität gegen eine intraperitoneale Reinfektion mit vollvirulenter Kultur. Während die intrakutan vorbehandelten Tiere bei der Reinfektion i. p. bis 100 letale Dosen vertrugen, gingen die intraperitoneal mit avirulenter Kultur vorgespritzten Tiere ein, bei Verwendung der einfach letalen Dose. (Tab. VIII.)

Tabelle VIII.

Meerschweinchen	Intraperitoneale Vorbehandlung mit avirulentem Paratyphusstamm (Hungerstamm) B Nr. 16	Reinfektion ip. mit virulentem Paratyphus B-Stamm Nr. 16 (1 let. Dos. 1:5000 Schrägagarkultur)	Resultat
Nr. 9	1:100 Schrägagarkultur	1:100 = 50 let. Dos. Schrägagarkultur	$\dagger_1$
„ 10	1:50 „	1:1000 = 5 let. Dos. Schrägagarkultur	$\dagger_2$
„ 11	1:20 „	1:2500 = 2 let. Dos. Schrägagarkultur	$\dagger_2$
„ 12	1:10 „	1:5000 = 1 let. Dos. Schrägagarkultur	$\dagger_2$

II. Teil.

Betrachten wir die hier mitgeteilten Versuchsergebnisse im Lichte eines ursächlichen Zusammenhangs, so erwehrt man sich schwer des

Eindrucks, daß die akut gewordene Frage von der Sonderstellung der Haut auf dem Gebiete der Immunität und der Infektion wohl zu Recht besteht. Ganz abgesehen von der seit altersher gewonnenen Erkenntnis über die Wechselbeziehungen zwischen festhaftender Immunität und einer großen Reihe von exanthematischen Infektionskrankheiten, abgesehen von der nicht weniger alten Erkenntnis von den Wirkungen auf den Allgemeinorganismus, die über den Weg des primären Hautreizes (Helio-Balneo-Therapie usw.) führen, sind es wesentlich die sich rasch häufenden experimentellen Befunde — die dem Hautorgan im Geschehen von Immunität und Infektion gerecht zu werden trachten.

Die zahlreichen Arbeiten von Levaditi und Mitarbeitern, Vallée u. Carré, Terni, Waldmann u. Trautwein u. a. über die Rolle des Ektoderms bei den durch filtrierbare Erreger hervorgerufenen Krankheiten gehen nicht nur konform mit den theoretischen Ausführungen von Mense, sondern haben die Rolle des Ektoderms bei Infektionsprozessen dieser Art auf gute experimentelle Basis gestellt.

Die Arbeiten von Martenstein und Schapiro über die „Dermotropie" des Trichophytonpilzes im Zusammenhang mit den Befunden von Inga Saeves, Bloch, u. Kusunoki und anderen gaben Martenstein u. Schapiro Veranlassung zur Behauptung, daß „die Haut bei den Allergiesierungsprozessen und Immunitätsvorgängen der Trichophytie nicht nur mitbeteiligt ist, sondern die einzige bisher nachgewiesene Rolle spielt und daß die absolute Sonderstellung einnimmt."

Doch nicht nur bei den Infektionskrankheiten, bei denen die Haut- und Schleimhauterscheinungen von klinischem und allgemeinpathologischem Standpunkt eine exquisite Sonderstellung einnehmen, sondern auch bei Krankheiten, bei denen die inneren Organe mitaffiziert werden können, und bei denen die „Dermotropie" des virus weniger zum Vorschein kommt, muß, wie Jeßner es bei Sporotrichose gezeigt, der Haut eine hervorragende Rolle beim Zustandekommen der Immunität zugesprochen werden.

Aehnlich wären die Befunde von Besredka zu bewerten, die für eine Sonderstellung der Haut bei Milzbrand und Staphylokokkeninfektion sprechen. Auch in diesen Fällen handelt es sich um Infektionskrankheiten, bei denen allein schon die Mitbeteiligung der Haut am klinischen Bild es bis zum gewissen Grade verständlich erscheinen ließe, daß die Haut für ein Zustandekommen der Immunität und für den Verlauf der Infektion von entsprechender Bedeutung wäre.

Viel weniger einleuchtend im Sinne unserer bisherigen Kenntnisse sind die Befunde von Müller, die eine Sonderstellung für das Hautorgan auf dem Gebiete der Immunität in Anspruch nehmen, die weit über die Grenzen des Spezifitätsbegriffes zu gehen scheint.

Die als Beispiel herangezogenen Beläge sind keineswegs ohne Widerspruch geblieben; es haben vielmehr speziell die Müllerschen Deutungen zu lebhafter Diskussion Anlaß gegeben.

Es erübrigt sich wohl daher rein theoretisch, zu der angeschnittenen Frage Stellung zu nehmen, umsomehr als in der Beweiskette, die für eine Befürwortung der Haut-Sonderstellung spräche, gar manche Glieder noch fehlen.

Nur durch zielbewußtes Anhäufen von experimentell fundierten Tatsachen kann, wie bereits hingewiesen, zur Klärung der Frage beigetragen werden.

Wenden wir uns nun zu den im I. Teil der Arbeit niedergelegten Befunden, so wäre zunächst zu beachten, daß bei allen 3 Versuchsserien Antigene zur Verwendung kamen (Pferdeserum und Bakterien der Typhusgruppe), denen weder spezifische Beziehungen zum Ektoderm zukommen, noch der Begriff der „Dermotropie" eigen ist.

Diese Tatsache dürfte nicht ohne Bedeutung sein, da hierdurch ein Streiflicht geworfen wird auf die Rolle der Haut im Geschehen von Infektion und Immunität auch bei solchen Prozessen, bei denen klinisch die Hauterscheinungen in den Hintergrund treten.

Wenden wir uns zur Betrachtung der in Tab. 1, 2, 3 zusammengestellten Resultate (über Hautallergie nach perkutaner Serumapplikation), so sehen wir, daß der stark ausgesprochene Unterschied, der zu Tage tritt bei intrakutaner Seruminjektion in die perkutan vorbehandelte Seite im Vergleich, zur unvorbehandelten Flanke, sofern die Inkubationszeit entsprechend gewählt ist (Tab. 1), ganz unzweideutig für eine örtliche allergische Umstimmung der vorbehandelten Hautpartie spricht. Auf dem Umwege über den Allgemeinorganismus läßt sich ein solches Verhalten auf jeden Fall nicht erklären. Im Gegensatz hierzu könnte wohl die schwache Mitreaktion der unvorbehandelten Seite bei kurzer Inkubationsfrist (Tab. 1) und die stärker werdende Reaktion der gleichen unvorbehandelten Seite bei längerer Inkubation (Tab. 2) wohl als auf dem Umwege über den Allgemeinorganismus entstanden erklärt werden.

Es muß aber hervorgehoben werden, daß, solange nicht auf experimentellem Wege ein solcher Mechanismus des Zustandekommens sichergestellt ist, keineswegs andere Erklärungsmöglichkeiten ausgeschlossen scheinen, Erklärungsmöglichkeiten, die im Sinne einer isolierten oder unabhängig vom Allgemeinorganismus entstehenden Hautallergie gedeutet werden müßten. In dieser Beziehung sei an die aus der Literatur bekannten negativen Resultate erinnert, auf perkutanem Wege eine spezifische Allgemeinanaphylaxie hervorzurufen. Auch uns ist eine entsprechende Allgemeinsensibilisierung auf perkutanem Wege nicht gelungen.

Ein solches Verhalten dürfte also wohl zur Vorsicht mahnen, den Zustand der Hautallergie als unbedingt auf dem Wege über den Allgemeinorganismus entstanden zu deuten, es sei denn, daß man den Ausschlag der an und für sich hochempfindlichen Anaphylaxiereaktion, speziell bei intravenöser Reinjektion, als dennoch zu „unempfindlich" stempelt.

Auch die jüngst erschienenen Arbeiten von Neufeld scheinen darauf hinzuweisen, mit den Deutungsmöglichkeiten doch recht vorsichtig zu sein.

Die in Tab. III. zusammengestellten Rusultate bedürfen einiger ergänzenden Bemerkungen. Die starke Mitbeteiligung der ungesalbten Seite bei O. H. dürfte wohl ihre Erklärung finden in der allergischen Umstimmung des Gesamtorganismus vor ca. 27 Jahren, die entweder als solche persistiert hat (was aber wenig wahrscheinlich ist, wenn man sich an die Literaturangaben hält), oder aber die durch die perkutane Vorbereitung, soweit die Haut in Frage kommt, — sich von neuem und rasch wieder ausgebildet hat (Biberstein, Oschinsky). Die Hauterscheinungen waren so stark auf beiden Seiten (Brenn- und Juckreiz), daß sogar zu feuchten Umschlägen gegriffen wurde.

Die paradoxe Reaktion bei Dr. W. J., bei dem die gesalbte Seite

schwächer reagierte als die ungesalbte, erklären wir uns durch die Sonderheiten der Inkubation. Der 1. Turnus von Einreibungen war vom 2. Turnus durch eine 2-monatliche Frist unterbrochen. Wir nehmen an, daß während des 1. Turnus es schon zu einer örtlichen Sensibilisierung gekommen war, die während des 2. Turnus einer örtlichen Desensibilisierung Platz machte, wobei die darauffolgende Intrakutierung die abgeschwächte Desinsibilisierungsreaktion dokumentierte.

Die gegebenen Erklärungen fänden ihre experimentellen Beläge in den Beobachtungen von Eskuchen.

Lassen wir die Erklärungsversuche über das Zustandekommen der Allergie an den unvorbehandelten Hautstellen bei Seite, und halten wir uns ausschließlich an den Unterschied, der nach kurzer (14tägiger) Inkubation bei der Intrakutierung der gesalbten Seite und der unvorbehandelten markant zu Tage tritt, so müssen wir zum bindenden Schluß kommen, daß das Zustandekommen einer Hautallergie, die in loco sich ausbildet, sichergestellt ist.

Damit ist aber auch erwiesen, daß die Haut wohl befähigt ist, eine allergische Umstimmung ihrer selbst selbständig und unabhängig vom übrigen Organismus in die Wege zu leiten. Ist dem aber so, so steht prinzipiell nichts im Wege, eine Ausbreitung der örtlich und zellulär entstehenden Allergie sowohl vom lokal entstandenen Herd auf die übrige Haut (als Organ gedacht), als auch von der Haut auf den Gesamtorganismus zuzulassen.

Eine solche Annahme widerspricht weder der Humoral-Theorie, bei der letzten Endes das Säftebild doch nur die Zellularreaktion widerspiegelt (gleichviel, wo und an welchen Zellen die Reaktion sich abgespielt hat), noch den physiko-chemischen Deutungen der Immunitätslehre und steht andererseits in bestem Einklang mit der modernen Denkungsweise von den engsten Wechselbeziehungen, die zwischen jeder einzelnen Zelle und dem Gesamtorganismus zu bestehen scheinen.

Die aktive Rolle der Haut bei dem Problem der Infektion und Immunität geht, wie uns scheint, noch deutlicher hervor aus den Ergebnissen der II. Versuchsserie, die in Tab. IV u. V wiedergegeben sind.

Wenn bei parenteraler Einverleibung eines Sensibilisinogens die allergische Reaktion an verschiedenen Hautbezirken (entsprechend dem primären und sekundären Kapillarnetz (Weyl) in deutlichster Abhängigkeit steht von der Art der Einführung, so meinen wir, in solchem Verhalten einen deutlichen Hinweis zu erblicken, daß der Begriff von allergischer Umstimmungsfähigkeit nicht weit genug gefaßt werden kann und wohl sicherlich nicht auf eine begrenzte Zellgruppe sich erstreckt, oder gar an bestimmte Organe (Milz, Knochenmarkt etc.) gebunden ist. Wenn dem so wäre, wenn auch bei diesen Versuchsserien die Haut (seien es die Kapillarendothelien der Haut oder Zellgruppen der Haut, die jenseits des Kapillarkreislaufes liegen) ihre allergische Reaktion nicht selbst prägen, sondern sie rein passiv zuerteilt bekommen, so wäre es absolut unverständlich, wie solch ein unterschiedliches Verhalten der verschiedenen Hautbezirke zu erklären wäre.

Im Gegensatz zu solcher Annahme stehen unsere Befunde in bestem Einvernehmen mit den Arbeiten von Forssmann, Sedan und Hermann, Weyl, Boerner-Patzelt, Desliens und anderen.

Die Arbeit von Weyl über quantitative Bestimmungen von Arsen in den verschiedenen Organhälften (bei symmetrisch gebauten Organen) in Abhängigkeit von der Injektionsart (intraarteriell) haben mit aller

Evidenz erwiesen, daß das entsprechende primäre Kapillarnetz nicht im Sinne eines Trichters, sondern im Sinne eines Filters wirkt. Die analogen interessanten Versuche von Boerner-Patzelt haben gezeigt, daß neben dem mechanischen Filtermoment die elektive — also durchaus spezifisch aktive Rolle des Reticulo-endothelialen Apparates von ausschlaggebender Bedeutung ist, wobei in dem einen Falle die eingeführte Substanz mit außerordentlicher Reaktivität von den entsprechenden Zellen fixiert und ev. weiterverarbeitet wird, im anderen Falle nur in träge Wechselbeziehungen tritt.

Auch die Arbeiten von Desliens, aus denen hervorgeht, daß selbst das feindisperse kolloidale System, wie wir es im Serum vor uns haben, in ähnlichen Wechselbeziehungen steht zu dem primären, bzw. sekundären Kapillarnetz, — wie die viel gröberen dispersen Phasen, sprechen eindeutig dafür, daß die Frage der lokalen Allergie, trotz großer bestehender Lücken — keineswegs ad acta gelegt werden darf.

Unsere bescheidenen Versuchsreihen, so lückenhaft sie sein mögen, und so wenig sie alleingenommen beweiskräftig sind, scheinen doch gut als Einzelsteine in den Bau hineinzupassen, an dem heute so eifrig gebaut wird, und der die Rolle der lokalen Allergie und Infektion zu entschleiern trachtet.

Wenden wir uns nun zur Betrachtung der in Tab. VI, VII und VIII zusammengestellten Befunde, so können wir zunächst feststellen, daß bei vergleichender intrakutaner und intraperitonealer Infektion mit dem gleichen vollvirulenten Paratyphusstamm sich enorme Unterschiede ergeben in Abhängigkeit von der Applikationsart.

Hier eine rasche, tödlich verlaufende Allgemeininfektion nach i. p. Injektion von 1:5000 Schrägagarkultur, dort nur eine heftige Lokalreaktion ohne üble Folgen für den Allgemeinorganismus bei intratäner Einführung der 250fachen letalen Dose, gleich 1:20 Schrägagarkultur.

Dieses Versuchsergebnis spricht nicht nur dafür, daß die Haut ein mächtiger mechanischer Schutzwall ist, der den Makroorganismus gegen die Gefahren der Außenwelt zu schützen vermag. Dieses Resultat besagt vielmehr, daß auch beim willkürlichen Durchbruch durch die schützende Epidermis (wie z. B. bei der Intrakutierung) wir unter Umständen auf mächtige Schutzkräfte stoßen, die in der Haut gelegen sind.

Die Tatsache, daß die aus solchen lokal verlaufenden Reaktionsherden gezüchteten Bakterien in morphologischer und biologischer Hinsicht sich häufig nicht unwesentlich von der Ausgangskultur unterscheiden, läßt am ehesten diese Schutzkräfte im Sinne einer ausgesprochenen biologischen Reaktion der Haut deuten.

Ohne aus solchen Versuchsergebnissen die Berechtigung zu folgern, den Begriff der biologischen Schutzkräfte der Haut zu verallgemeinern, glauben wir doch im gegebenen Falle (bei Paratyphusinfektion), ein experimentell begründetes biologisches Reaktionsmoment in der Haut nachgewiesen zu haben. Das erzielte Versuchsergebnis steht im Einklang mit den Anschauunegen, die jüngst von Neufeld entwickelt worden sind über Beziehungen von Haut und Schleimhaut zur Infektion.

Betrachten wir ferner die Resultate, die erzielt wurden, bei intrakutaner Vorbehandlung mit dem gleichen vollvirulenten Paratyphus-

stamm, so sehen wir, daß im Gefolge einer in erster Linie lokal sich abspielenden Infektion ein hoher Grad von Allgemeinimmunität erzielt wird. Die für den Allgemeinorganismus gefahrlose intrakutane Vorbehandlung mit lebendem Virus ergiebt nach Verlauf einer 3wöchentlichen Inkubation einen Immunitätsgrad, der es anstandslos gestattet, bis 100 letale Dosen des homologen Stammes nunmehr intraperitoneal zu verabfolgen; ein Resultat, das im günstigsten Fall erzielt werden kann, falls lebendes Virus auf anderem parenteralen Wege in den Allgemeinorganismus gefährdenden Dosen verwendet wird.

Berücksichtigen wir dabei die jüngst erschienene Arbeit von Friedberger und Cechini, die älteren Arbeiten von Metschnikoff und Besredka, aus denen hervorgeht, daß ein praktisch brauchbarer Schutz gegen gewisse Infektionskrankheiten nur mit lebendem Virus erzielt werden kann, so beanspruchen die hier mitgeteilten Resultate gesonderte Beachtung.

Besonders auffällig ist aber in diesem Zusammenhang das Resultat der vergleichsweise durchgeführten intrakutanen und intraperitonealen Impfung mit avirulentem Paratyphus B-Stamm (Tab. VII, VIII). Das völlige Versagen der intraperitonealen Impfung mit avirulentem Stamm gegen die Reinfektion mit einfacher letaler Dosis des virulenten Stammes und andererseits das Ueberstehen der i. p. Reinfektion mit hundertfacher letaler Dosis desselben Stammes — der intrakutan (mit avirulentem Stamm) vorbehandelten Tiere läßt keinen Zweifel darüber, daß der Unterschied in dem Ort der Applikation der 1. Impfung zu suchen ist.

Wir sind uns wohlbewußt, daß damit noch keineswegs die immunbiologische Sonderstellung der Haut im Sinne von Hoffmann, Fellner, Meyer u. a. sichergestellt ist, aber sichergestellt scheint zu sein, daß ein ausreichender Grund für solches unterschiedliche Verhalten im Applikationsort selbst gelegen sein muß.

Handelt es sich aber dabei um besondere Resorptionsverhältnisse, etwa im Sinne von Depotbildung (Böhme) mit konsekutiver Resorption von kleinen und kleinsten Antigenmengen, oder um indirekte Wirkung durch das vegetative Nervensystem im Sinne von Klemperer, Vollmer, um Hoffmanns Esophylaxie, um unspezifische Stoffe im Sinne der Immunitätserzeugung, die stimulierend auf entfernte Bildungsstätten der Antikörper wirken, bzw. entsprechende Immunitätsqualitäten schaffen, oder tatsächlich um ein Entstehen von Immunitätsqualitäten, die in loco sich bilden und die in der Folge auf den Gesamtorganismus ausgedehnt werden (Moro), alles das sind Fragen, die noch der einheitlichen Beantwortung harren.

Aber gleichviel, um welchen Mechanismus (isoliert oder kombiniert) es sich dabei handelt, die Tatsache, daß bei intrakutaner Applikation eines avirulenten Para-B-Stammes eine hochgradige Allgemeinimmunität erzielt werden konnte, die bei i. p. Impfung um mehr als das hundertfache zurückbleibt, weist auf eine Sonderstellung dieser Applikationsart bzw. dieses Applikationsortes hin.

Resumieren wir die mitgeteilten Resultate vom Standpunkt der im Titel der Arbeit verzeichneten Richtung, so ergiebt sich: 1. daß die Haut wohl befähigt ist zur lokalen Ausbildung einer Allergie sowohl infolge von örtlicher perkutaner Applikation von heterologem Eiweiß, als auch in Abhängigkeit von parenteraler intraarterieller Sensibilisierung; — 2. daß in der Wechselbeziehung zwischen Makro-

und Mikroorganismen der Haut unter Umständen nicht nur mechanische, sondern auch biologische Schutzkräfte zu Gebote stehen; — 3. daß der Haut unter Umständen nicht nur bei den sogenannten „Ektodermosen" oder bei Infektionsprozessen mit spezifischen Hauterscheinungen, sondern auch bei anderen Infektionsprozessen bei der Ausbildung von allgemeiner Immunität eine nicht zu unterschätzende Bedeutung zuerkannt werden muß.

Zum Schluß sei noch erwähnt, daß die experimentellen Befunde über die Prägung einer ausgesprochenen Immunität mit praktisch avirulentem Stamme bei intrakutaner Applikationsart geeignet scheinen, die Frage der Immunisierung mit lebendem Virus in einem gewissen Sinne zu erweitern.

Literatur.

1) Arloing et Dofour, Compt. Rend. Soc. Biol. 1924. Nr. 7. — 2) Bass, Ibid. 1923. 2. VI. — 3) Besredka, Ibid. 1923. — 4) Bieberstein u. Jadassohn, Klin. Woch. 1923. S. 970. — 5) Bieberstein u. Oschinsky, Ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. H. 5/6. — 6) Bloch, Klin. Woch. 1922. Nr. 4. — 7) Bloch u. Kusunoki, zit. nach Martenstein u. Schapiro. — 8) Boerner-Patzelt, Klin. Woch. 1923. Nr. 11. — 9) Böhme, Brauer, Beitr. z. klin. d. Tbc. Bd. 53. 1922. H. 4; zit. nach Lieschke. — 10) Cernaianua, Compt. Rend. Soc. Biol. 1924. Nr. 7. — 11) Destiens, Ibid. 13. I. 27. I. 12. V. 1923. — 12) Eskuchen, Klin. Woch. 1923. Nr. 9. — 13) Fellner, Volkm. Vortr. Nr. 779/750. 1919. — 14) Forssman, zit. nach Friedberger, Hdb. v. Krauss-Brugsch. — 15) Friedberger u. Cechini, Klin. Wochenschr. 1923. Nr. 52. — 16) Groer, Ibid. 1923. Nr. 31. — 17) Hoffmann, Dtsch. med. Woch. 1919. Nr. 45. — 18) Jessner, zit. n. Martenstein u. Schapiro. — 19) Klemperer u. Peschic, Ibid. 1923. Nr. 13. — 20) Levaditi, Compt. Rend. Soc. Biol. 1921. S. 320; Ann. d. l'Instit. Past. 1922. S. 36. — 21) Lieschke, Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 19. — 22) Martenstein u. Schapiro, Ibid. 1923. Nr. 29. — 23) Mendelejeff et Hannevart, Compt. Rend. Soc. Biol. 1924. Nr. 9. — 24) Mense, Münch. med. Woch. 1920. S. 1111; Klin. Woch. 1923. Nr. 27. — 25) Moro, Ibid. 1922. Nr. 13; Klin. Woch. 1923. Nr. 49. — 26) Müller, Ibid. 1921. Nr. 29; Berl. klin. Woch. 1919. Nr. 34; Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 23. — 27) Neufeld, Sitzungsber. d. Mikrobiol. Ges. v. 10. XII. 23; ref. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 76. H. 5/6. — 28) Oeller, Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 41. — 29) Opitz, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 88. H. 4. — 30) Plotz, Ann. Instit. Past. 1924. Nr. 2. — 31) Ritter, Klin. Woch. 1923. S. 784. — 32) Rosenthal, Zeitschr. f. Immunitätsf. 1921. Nr. 31. — 33) Saeves, Arch. f. Dermat. u. Syph. Bd. 121. 1916. S. 161. — 34) Schubert, Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 52. — 35) Sédan et Herrman, Compt. Rend. Soc. Biol. 1924. Nr. 4. — 36) Stahl u. Winkler, Dtsch. med. Woch. 1923. Nr. 46. — 37) Terni, zit. nach Waldmann u. Trautwein. — 38) Valle et Carré, Compt. rend. Soc. Biol. 1924. Nr. 3. — 39) Vollmer, Klin. Woch. 1923. Nr. 4. — 40) Waldmann u. Trautwein, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 89. 1923. — 41) Wassermann, Münch. med. Woch. 1922. Nr. 16. — 42) Weyl, Klin. Woch. 1923. Nr. 28.

Inhalt.

Claudius, M., Ein Fall von akuter, tödlich verlaufender Zerebrospinalmeningitis mit eigentümlicher Pathogenese und wohl bisher unbekannter Aetiologie. Mit 2 Tafeln, S. 519.

Hartoch, O., Muratowa, K., Joffe, W., Berman, W., Zur Bedeutung der Haut bei Infektions- und Immunitätserscheinungen, S. 528.

Klüchin, S., Paratyphus N, S. 495.

Kollath, Werner, Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen (Baz. Pfeiffer). I. Mitteilung: Herstellung eines festen vitaminhaltigen Nährbodens und Verhalten der vitaminhaltigen Substanzen in diesem, S. 506.

Meißner, Gertrud, Die Bindungsverhältnisse zwischen Bakteriophagen und Bakterien, S. 489.

Pesch, Karl L., Milzbrand-Pseudobakteriophagen. Mit 1 Tafel, S. 525.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena — 5271

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 93 enthaltenen Arbeiten.

Die mit * bezeichneten Seitenzahlen beziehen sich auf den Bericht über die 10. Tagung der „Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie", der als Beiheft zu Band 93 (Heft 1/4) gedruckt wurde.

Adelsberger, L. s. **Schiff, F.**

Arndt, A., Demonstrationen zur Kenntnis der Kulturamöben. 257*

Baars, G. s. **Mießner, H.**

Beniasch, M., u. **Lerner, D.,** Methode der beschleunigten Ausflockungsreaktion bei Syphilis. 352

Berger, E. s. **Schnitzer, R.**

Berman, W. s. **Hartoch, O.**

Biberstein, H., u. **Lubinski, H.,** Untersuchungen über Organ- und Artspezifität. 222*

Bieling, R., Untersuchungen über das Wesen des Tuberkulins 56*

Bien, Z., Ueber das Alkohol-Fleckfieber-Diagnostikum. 196*

Bodenheimer, F. S., Ueber die Voraussage der Generationenzahl von Insekten. II. Die Temperaturentwicklungskurve bei medizinisch wichtigen Insekten. 474

Braun, H., Allgemeines über den Verwendungsstoffwechsel pathogener Bakterien. 183*

Brekenfeld u. **Kirchner,** Demonstrationen zur Anaerobentechnik. 258*

Bruns, Hayo, Typhusepidemien und Wasserleitungen. 201*

Bürgers, Zur Scharlachätiologie. 220*

Claudius, M., Ein Fall von akuter, tödlich verlaufender Zerebrospinalmeningitis mit eigentümlicher Pathogenese und wohl bisher unbekannter Aetiologie. 519

Dahmen, Züchtung und Morphologie des Erregers der Lungenseuche und Maul- und Klauenseuche. 125*

Dimitrijevic-Speth, Vojin, Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel und Agardurchdringung. 486

Dresel, E. G., Ueber Anthrakozidie und Bakterizidie. 303*

Erdmann, Rhoda, Die Eigenschaften in vitro gezüchteter Stromazellen des Flexner-Jobling-Karzinoms. 194*

Firle, Edith s. **Prausnitz, Carl.**

Gildemeister, E., u. **Herzberg, Kurt,** Zur Theorie der Bakteriophagen (d'Herelle-Lysine). 6. Mitteilung über das d'Herellesche Phänomen. 402

Gitowitsch, M. s. **Isabolinsky, M.**

Gotschlich, E., Die Variabilität der Mikroorganismen in allgemein-biologischer Hinsicht. *2

Gottschalk, Hanna s. **Pesch, Karl L.**

Grütz, Ueber Variabilität pathogener Hautpilze. 268*

Gutfeld, Fritz v., u. **Weigert, Edith,** Zur Serodiagnostik der Tuberkulose mittels Komplementbindung. II. Mitteilung. 436

Gutstein, M., Das Ektoplasma der Bakterien. I. Mitteilung: Ueber eine allgemeine Methode zur Darstellung des Ektoplasmas der grampositiven Bakterien. 393

— —, Ueber die färberische Darstellung des Bakterienektoplasmas. Zugleich ein Beitrag zur Theorie der Gramschen Färbung. 233*

Haim, Fettstudien. 253*

Hammerschmidt, Johann, Ueber Gruppenbildung bei den Diphtheriebazillen. 443

Hartoch, O. s. a. **Schloßberger, H.**

Hartoch, O., Muratowa, K., Joffe, W., u. **Berman, W.,** Zur Bedeutung der Haut bei Infektions- und Immunitätserscheinungen. 528

Herzberg, Kurt s. **Gildemeister, E.**
Hilgers, Der Bacillus necrodentalis (Goadby) bei Zahnkaries. 249*
Hille, Georg s. **Prausnitz, Carl.**
Hoder, Friedrich, Vergleichende Untersuchungen von Coli-Dysenterie- und Paratyphusbakteriophagen. 424
Isabolinsky, M., u. **Gitowitsch, W.,** Ueber die Bruck'sche Syphilisreaktion. 359
Joffe, W. s. **Hartoch, O.**
Jollos, V., Variabilität und Vererbung bei Protisten. 22*
Karmann, P., Die Agglutination mit dem Tuberkulose-Diagnostikum nach Fornet zur Erkennung der Rindertuberkulose. 368
Kirchner s. **Brekenfeld.**
Klopstock, A. s. **Sachs, H.**
Klüchin, S., Paratyphus N. 495
Kollath, Werner, Vitaminähnliche Substanzen in ihrer Wirkung auf das Wachstum der Influenzabazillen (Baz. Pfeiffer). I. Mitteilung: Herstellung eines festen vitaminhaltigen Nährbodens und Verhalten der vitaminhaltigen Substanzen in diesem. 506
Kraus, R., Ueber Infektionskrankheiten und Epizootien in Südamerika. 131*
Kruse, Rasse und Blutzusammensetzung. 170*
Kuhn, Ph., Weitere Einblicke in die Entwicklung der A-Formen (Pettenkoferiaformen). 280*
Küster, Interferometrische Untersuchungen nach P. Hirsch zum Nachweis der Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose. 294*
Lange, Bruno, Experimentelle Untersuchungen über die Bedeutung der Tröpfchen- und Staubinfektion bei der Tuberkulose. 66*
Lauda, A. s. **Luger, E.**
Lerner. D. s. **Beniasch, M.**
Lipschütz, B., „Herpetischer Zoster"? Kerneinschluß oder Kerndegeneration? 361
Lisch, Hans, Ueber die sogenannten Pyocyaneus-Bakteriophagen. 421
Lorentz, Friedr. H., Der Säurezusatz zu Gonokokkennährböden. 467
Lubinski, H. s. **Biberstein, H.**
Luger, A., u. **Lauda, E.,** „Herpetischer Zoster"? Kerneinschluß oder Kerndegeneration. Bemerkung zu der gleichnamigen Arbeit von Dr. B. Lipschütz, Wien (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 93. S. 361). 469
Lusena, M. s. **Schloßberger, H.**
Manninger, R., Zur Diagnostik der Paratyphusbazillen der Hogcoleragruppe. 371
Manteufel, P., Bemerkungen zu dem Ergebnis der bisherigen Untersuchungen betr. Abänderung der amtlichen Anleitung für die Ausführung der Wassermann-Reaktion. 305*
Manteufel, P., Demonstration eines neuen Seitz-Filters für Laboratoriumszwecke. 259*
Meißner, Gertrud, Die Bindungsverhältnisse zwischen Bakteriophagen und Bakterien. 489
Mießner, H., u. **Baars, G.,** Das d'Herellesche Phänomen an Rotlaufbakterien. 131*
Minervin, S., Eine Selektionsmethode für den Choleravibrio. 334
Mittermaier, R., Phagozytose und Zellimmunität. 240*
Morgenroth, J., Die Bedeutung der Variabilität der Mikroorganismen für die Therapie. 94*
Muratowa, K. s. **Hartoch, O.**
Neufeld, F., Die Veränderlichkeit der Mikroorganismen in ihrer Bedeutung für die Epidemiologie. 81*
Nißle, Zur Bakteriologie der gesunden und kranken Mundhöhle. 245*
Oehler, Rud., Symbiose und kommende Zelltheorie. 216*
Ogata, Norio, Zur Entstehung des Bakteriophagen in alten Kulturen. 329
Otto, R., Zur Kenntnis des anaphylaktischen Reaktionskörpers. (Nach Versuchen mit Prof. Shirakawa-Taihoku). 220*
Pesch, Karl L., Milzbrand-Pseudobakteriophagen. 525
—, —, Ueber experimentell erzeugte Wunddiphtherie. (Gleichzeitig ein Beitrag zur Variabilitätsfrage der Corynebakterien). 261*
—, —, u. **Gottschalk, Hanna,** Ueber den Sauerstoffbedarf der Corynebakterien. 459
Poppe, Die Bedeutung der bakteriologischen Fleischuntersuchung. 311*
Prausnitz, Carl, u. **Firle, Edith,** Neuere Untersuchungen über das Wesen des Bakteriophagen. 148*
—, —, u. **Hille, Georg,** Die Vibriolyse außerhalb des lebenden Körpers. 480
Přibram, Die Bedeutung der Uebergangsformen für die Systematik der Mikroorganismen. 274*
Prigge, R. s. **Schloßberger, H.**
Rosenthal, Werner, Demonstration eines neuen Mikroorganismus aus der Mundhöhle. 247*
Roskin, G., Ueber das Vorkommen von aktinomycesartigen Organismen in einem Hühnersarkom. 472
Sachs, H., u. **Klopstock, A.,** Zur Serodiagnostik mittels Ausflockung. 167*
Sartorius, Neuartige Lysine bei Mycoidesbakterien. 162*
Schiff, F., u. **Adelsberger, L.,** Ueber blutgruppenspezifische Antikörper und Antigene. 172*
Schilling, Claus, Eine spezifische Reaktion bei der Tuberkulose des Meerschweinchens. 72*

Schloßberger, H., Hartoch, O., Lusena, M., u. Prigge, R., Ueber die Brauchbarkeit der Komplementbindung mit verschiedenen Antigenen für die Diagnostik der Tuberkulose. 59*
Schnitzer, R., u. Berger, E., Ueber die Wirkungsweise des Optochins gegenüber Pneumokokken. 292*
Schumacher, J., Zur Gramschen Färbung. 266*
Seitz, A., Endokrine Drüsen und Abwehr. I. Mitteilung. 227*
Seligmann, E., Neues aus der Enteritisgruppe. 288*
Sobernheim, Spirochätenbefunde bei den sogen. Malayenfibromen (Demonstration), 260*
Speyer, Ernst, Ueber die Wirkung verschiedener Wasserstoffionen - Konzentrationen auf das Wachstum des Coli-Bazillus in künstlichen Nährböden. 340
Titze, Experimentelles über die Maul- und Klauenseuche mit besonderer Berücksichtigung der Züchtung des Virus. 124*
Tron, Wilhelm, Die Verwendung des Seitzschen Entkeimungsfilters zur Entkeimung von Rotlaufserum. 380
Vogel, R., Dermacentor reticulatus F. in Württemberg. 390
Walter, Die Resultate der Untersuchungen Ferráns über Tuberkulose. *49
Wasielewski, v., Gesetzliche Handhaben der Typhus-Bekämpfung. 317*
Weigert, Edith s. **Gutfeld, Fritz v.**
Worms, Experimentelle Untersuchungen mit Stovarsol. 188*

II. Sachverzeichnis.

Abderhalden-Reaktion auf Tuberkulose. 294*
Actinomycesartige Organismen in einem Hühnersarkom. 472
A-Formen bei Bakterien, Entwicklung derselben. 280*
Agardurchdringung und Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel. 486
Alkohol-Diagnostikum für Fleckfieber. 196*
Amöben, Kultur-. 257*
Anaphylaxie, Reaktionskörper. 220*
Anopheles maculipennis, Temperaturentwicklungskurve. 476
Antigene, blutgruppenspezifische. 172*
Antikörper, blutgruppenspezifische. 172*
Anthrakozidie und Bakterizidie. 303*
Art- und Organspezifizität. 222*
Auflösung der Choleravibrionen außerhalb des lebenden Körpers. 480

Bac. coli, Bakteriophagen bei demselben. 424
— —, Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum derselben. 340
— —, Variabilität. 488
— enteritidis Gärtner, Variabilität. 288*
— mycoides, Lysine bei demselben. 162*
— necrodentalis bei Zahnkaries. 249*
—, neuer, aus der Mundhöhle. 247*
— pyocyaneus, Bakteriophagen bei denselben. 421
Bakterien, A-Formen bei denselben. 280*
—, anaërobe, Kultur. 258*
— und Bakteriophage, Bindungsverhältnisse zwischen denselben. 489
— —, Ektoplasma, Darstellung desselben. 393
— -Ektoplasma, Färbung desselben. 233*
— der Enteritisgruppe, Variabilität. 288*
— -Flora der gesunden und kranken Mundhöhle. 245*
—, pathogene, Verwendungsstoffwechsel derselben. 183*
—, Systematik, Bedeutung der Uebergangsformen. 274*
—, Variabilität. 2*, 81*, 94*, 280*
Bakteriophage s. a. d'Herellesches Phänomen.
— und Bakterien, Bindungsverhältnisse zwischen denselben. 489
Bakteriophage, Coli-, Dysenterie- und Paratyphus-. 424
—, Entstehung in alten Kulturen. 329
—, Pseudo-, bei Milzbrandbazillen. 525
—, Pyocyaneus-. 421
—, Theorie. 402
Bakterizidie und Anthrakozidie. 303*
Bericht über die 10. Tagung der Deutschen Vereinigung für Mikrobiologie. 1*
Blut, gruppenspezifische Antigene. 172*
—, gruppenspezifische Antikörper. 172*
Blutzusammensetzung und Rasse. 170*
Bruck-Reaktion für die Syphilisdiagnose. 359

Cerebrospinalmeningitis, Verlauf und Aetiologie. 519
Choleravibrionen, Lyse außerhalb des lebenden Körpers. 480
, Selektionsmethode. 334
, Variabilität. 334
Cimex lectularia, Temperaturentwicklungskurve. 478
Corynebakterien, Sauerstoffbedürfnis. 459
Culex pipiens, Temperaturentwicklungskurve. 475
Culicada ornata, Temperaturentwicklungskurve. 475

Dermacentor reticulatus, Vorkommen in Württemberg. 380
Diphtheriebazillen, Gruppenbildung bei denselben. 443
, Sauerstoffbedürfnis. 459
, Variabilität. 261*
Diphtherie, Wund-, experimentelle Erzeugung. 261*
Drüsen, endokrine, und Abwehr. 227*

Ektoplasma der Bakterien, Färbung desselben. 233*, 393
Epidemiologie, Bedeutung der Variabilität der Mikroorganismen für dieselbe. 81*
Epizootien, Vorkommen in Südamerika. 131*

Färbung des Bakterienektoplasmas. 233*
nach Gram, Wesen derselben. 266*
Ferráns Untersuchungen bei Tuberkulose. 49*
Fettstudien. 253*
Fibrome, Malayen-, Spirochäten in denselben. 260*
Filter nach Seitz zur Entkeimung von Rotlaufserum. 380
— — für Laboratoriumszwecke. 259*
Fleckfieber, Alkoholdiagnostikum. 196*
Fleischuntersuchung, bakteriologische. 311*
Flockungsreaktion, beschleunigte, für die Syphilisdiagnose. 352
Flockungsreaktionen für die Syphilisdiagnose. 167*

Generationenzahl von Insekten, Voraussage derselben. 474
Gewebszüchtung. 194*
Gonokokkennährböden, Säurezusatz. 467
Gram-Färbung, Wesen derselben. 266*
Hämagglutination zur Unterscheidung von Rassen. 170*
Haut, Bedeutung derselben bei Infektions- und Immunitätserscheinungen. 528
Hautpilze, pathogene, Variabilität derselben. 268*
d'Herellesches Phänomen s. a. Bakteriophage.
d'Herellesches Phänomen. 329, 402, 421, 424
— bei Rotlaufbazillen. 131*
— , Wesen desselben. 148*
Herpes Zoster. Kerneinschluß oder Kerndegeneration. 361, 469
Hogcoleragruppe, Differenzierung. 371
Hühnersarkom, aktinomycesartige Organismen in demselben. 472
Hyphomyzeten, pathogene, Variabilität derselben. 268*

Immunität, Zell-, und Phagozytose. 240*
Immunitätserscheinungen, Bedeutung der Haut bei denselben. 528
Infektionserscheinungen, Bedeutung der Haut bei denselben. 528
Infektionskrankheiten, Vorkommen in Südamerika. 131*
Influenzabazillen, Wirkung vitaminähnlicher Substanzen auf dieselben. 506
Insekten, Generationenzahl, Voraussage derselben. 474

Karzinom s. Krebs.
Komplementbindung für die Tuberkulosediagnose. 59*, 436
Krebs, Stromazellen desselben und ihre Kultur. 194*

Lungenseuche, Kultur und Morphologie des Erregers. 125*
Lysine bei Mycoidesbakterien. 162*

Malayenfibrome, Spirochäten in denselben. 260*
Maul- und Klauenseuche, experimentelle Untersuchungen. 124*
— —, Kultur des Erregers. 124*, 125*
, Morphologie des Erregers. 125*
Meerschweinchentuberkulose, spezifische Reaktion bei derselben. 72*
Meningitis cerebrospinalis, Verlauf und Aetiologie. 519
Mikroorganismen, Variabilität. 2*, 81*, 94*
Milzbrandpseudobakteriophagen. 525
Mundhöhle, Bakterienflora derselben. 245*
, neuer Mikroorganismus aus derselben. 247*
Musca domestica, Temperaturentwicklungskurve. 477

Nährboden, Gonokokken-, Säurezusatz. 467
für Influenzabazillen. 506
Nebennieren, Einfluß der Entfernung auf die Phagozytose. 227*

Optochin, Wirkungsweise bei Pneumokokken. 292*
Organ- und Artspezifität. 222*

Paratyphusbazillen, Bakteriophagen bei denselben. 424
der Hogcoleragruppe, Differenzierung. 371
Paratyphus N-Bazillen. 495
Pediculus hominis, Temperaturentwicklungskurve. 477

Pettenkoferiaformen, Entwicklung derselben. 280*
Phagozytose und Zellimmunität. 240*
Pneumokokken, Wirkung des Optochins. 292*
Protisten, Variabilität. 22*
—, Vererbung. 22*
Pseudobakteriophage s. Bakteriophage, Pseudo-.
Pulex irritans, Temperaturentwicklungskurve. 478

Rasse und Blutzusammensetzung. 170*
Rindertuberkulose, Diagnose mit dem Diagnostikum nach Fornet. 368
Rotlaufbazillen, d'Herellesches Phänomen bei denselben. 131*
Rotlaufserum, Entkeimung mittels Seitz-Filter. 380
Ruhrbazillen, Bakteriophage bei denselben. 424

Sarkom, Hühner-, aktinomycesartige Organismen in demselben. 472
Sauerstoffbedürfnis der Corynebakterien, 459
Scharlach, Aetiologie. 220*
Seitz-Filter zur Entkeimung von Rotlaufserum. 380
— — für Laboratoriumszwecke. 259*
Spirochäten, Vorkommen bei Malayenfibromen. 260*
Spirocid zur Syphilisprophylaxe. 188*
Staubinfektion bei Tuberkulose. 66*
Stegomyia fasciata, Temperaturentwicklungskurve. 476
Stichkultur in brutschrankflüssigem Nährmittel und Agardurchdringung. 486
Stoffwechsel pathogener Bakterien. 183*
Stovarsol zur Syphilisprophylaxe. 188*
Südamerika, Infektionskrankheiten und Epizootien. 131*
Symbiose und Zelltheorie. 216*
Syphilis, Bruck-Reaktion. 359
—, Diagnose mittels Flockungsreaktionen. 167*, 352*
—, Prophylaxe mittels Spirocid. 188*
—, — mittels Stovarsol 188*
—, Wassermann-Reaktion. 305*
Systematik der Mikroorganismen, Bedeutung der Uebergangsformen. 274*

Therapie, Bedeutung der Variabilität der Mikroorganismen für dieselbe. 94*
Tröpfchen- und Staubinfektion bei Tuberkulose. 66*
Tuberkelbazillen-Fette und Tuberkelbildung. 253*
Tuberkelbildung durch Tuberkelbazillenfette. 253*
Tuberkulose, Abderhalden-Reaktion bei derselben. 294*
—, Diagnose mittels Komplementbindung. 59*, 436
— -Diagnostikum nach Fornet zur Erkennung der Rindertuberkulose. 368
— Ferráns, Untersuchungen, Ergebnisse derselben. 49*
— des Meerschweinchens, spezifische Reaktion bei derselben. 72*
—, Tröpfchen- und Staubinfektion, Bedeutung derselben. 66*
Tuberkulin, Wesen desselben. 56*
Typhusbekämpfung. 317*
Typhusepidemie und Wasserleitungen. 201*

Uebergangsformen bei Bakterien. 274*

Variabilität des Bac. coli. 488
— der Bakterien der Enteritis-Gruppe. 288*
— der Choleravibrionen. 334
— der Diphtheriebazillen. 261*
— der Mikroorganismen. 2*, 81*, 94*, 280*
— pathogener Hautpilze. 268*
— der Protisten. 22*
Vererbung bei Protisten. 22*
Vibriolyse außerhalb des lebenden Körpers. 480
Vitaminähnliche Substanzen, Wirkung auf das Wachstum von Influenzabazillen. 506

Wasserleitungen und Typhusepidemie. 201*
Wassermann-Reaktion. Anleitung für die Ausführung derselben. 305*
Wasserstoffionen-Konzentration, Einfluß auf das Wachstum des Bac. coli. 340
Wunddiphtherie, experimentelle Erzeugung. 261*

Zahnkaries, Bac. necrodentalis bei derselben. 249*
Zellimmunität und Phagozytose. 240*
Zelltheorie und Symbiose. 216*

III. Verzeichnis der Abbildungen.

A-Formen bei Bakterien, Entwicklung derselben (Taf. I, II). 288*

Bac. necrodentalis. 252*

Bakteriophage, Diffusibilität. 152*

Cerebrospinalmeningitis, Aetiologie (Taf. I, II). 524

Ektoplasma der Bakterien, Darstellung desselben (Taf.) 402

d'Herellesches Phänomen an Rotlaufbazillen. 137*, 138*

Hühnersarkom, aktinomycesartige Organismen in demselben. 473

Milzbrand - Pseudobakteriophagen (Taf.). 528

Pyocyaneus-Bakteriophagen (Taf.). 424

Seitz-Filter zur Entkeimung von Rotlaufserum. 382. 390

— — für Laboratoriumszwecke. 259*

89.05 Nat. Hist.
LE
Ser. 2a
93
7-8
33

Centralblatt

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung: Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde

Originale

In Verbindung mit

Prof. Dr. R. Abel, Geh. Obermed.-Rat, Jena
Prof. Dr. M. Braun, Geh. Reg.-Rat, Königsberg i. Pr.
Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Med.-Rat, Breslau,

herausgegeben von

Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. O. Uhlworm, Bamberg, Kunigundendamm 61 II
Präsident Dr. A. Weber, Dresden-A. 21, Eisenacherstr. 26 II

und

Prof. Dr. E. Gildemeister, Ob.-Reg.-Rat, Berlin-Lichterfelde W, Victoriastr. 7

Verlag von Gustav Fischer in Jena

93. Band | Jena, 30. Dezember 1924 | Heft 7/8

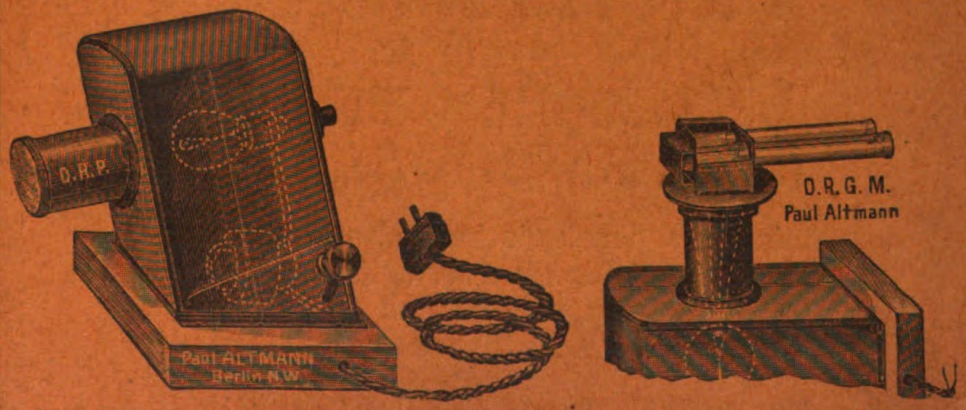
— Jeder Band umfaßt 8 Hefte, die in zwangloser Folge erscheinen. —

PAUL ALTMANN

Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr. **BERLIN NW 6** Luisenstraße 47 Ecke Schumannstr.

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie, Mikroskopie und Hygiene



Neue Dunkelfeld-Mikroskopierlampe nach Falkenthal

Neues „Lampen-Agglutinoskop" nach Gildemeister-Herzberg

(Cfr. diese Zeitschrift 1924, Heft 7/8)

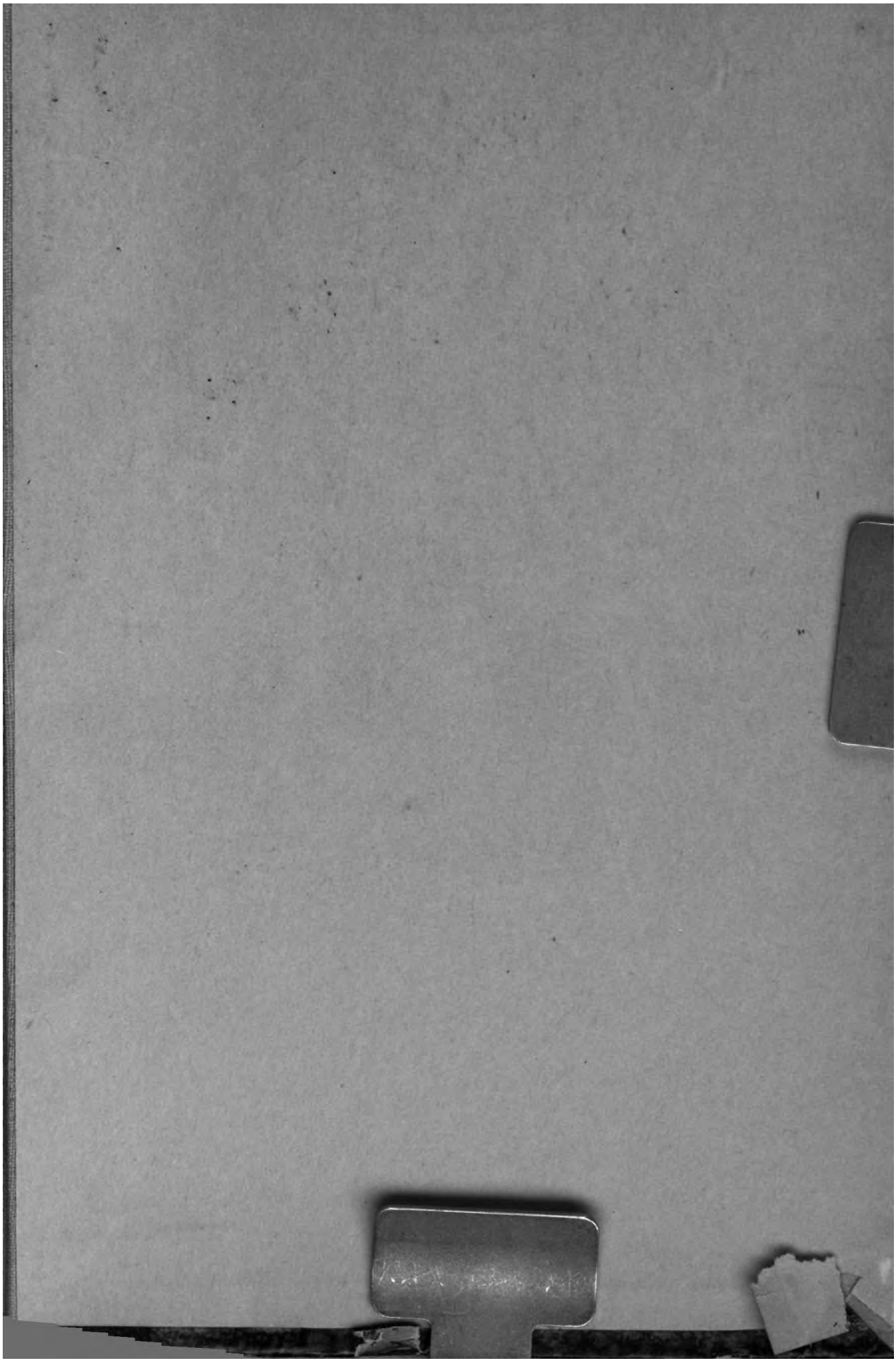
Prof. Dr. E. Přibram's mikrobiologische Sammlung
vorm. Král's bakteriologisches Museum
Wien IX/2, Zimmermanngasse 3
(Abgabe von Bakterien, Hefen, Pilzen, Museálkulturen, mikroskopischen Präparaten von Mikroorganismen, Photogrammen, Diapositiven und Nährböden).

Meerschweinchen, Kaninchen, bunte Ratten, weiße Mäuse, Frösche
liefert jeden Posten
A. Seyer, Berlin N. 54, Ackerstraße 19
Export. — Import.

Preisweites Angebot!
Neues (nicht benutztes) **Zeiss Apochrom. Objektiv** Homog. Oelimmersion 90, Ap. 1.4, 2 mm Brennweite
Optische Anstalt Kresinsky, Würzburg.

betr.: Diesem Hefte ist ein Prospekt der Verlagsbuchhandlung **R. Oldenbourg, München, „Romeis, Taschenbuch der mikroskopischen Technik"**, beigefügt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle in Jena.



UNIVERSITY OF ILLINOIS-URBANA
589.05CE C001
ZENTRALBLATT FUR BAKTERIOLOGIE, PARASITE
93 1924
3 0112 009814952